

**Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik III
Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. Wolfgang Hiddemann
und dem
Institut für Medizinische Informationsverarbeitung, Biometrie und
Epidemiologie, Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. Ulrich Mansmann**

**Bewertung klinischer und biologischer
Prognosefaktoren und Etablierung von
Prognosemodellen sowie Therapieforschung
bei malignen Lymphomen und Leukämien**

**Kumulative Habilitationsleistung
zum Erwerb der Lehrbefähigung für das Fachgebiet
Klinische Epidemiologie und Medizinische Biometrie**

**vorgelegt von
Eva Hoster
2017**

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	3
Klinische Epidemiologie und medizinische Biometrie	3
Therapieforschung beim Mantelzell-Lymphom	4
Die MCL Younger-Studie des European MCL Network	4
Die MCL Elderly-Studie des European MCL Network	9
Prognosefaktoren und Prognosemodelle beim Mantelzell-Lymphom	14
Der Mantle Cell Lymphoma International Prognostic Index (MIPI)	15
Der Proliferationsmarker Ki-67-Index	16
Methodische Aspekte	21
Genetische Copy-Number-Alterationen	25
Minimal Residual Disease (MRD)	25
Prognosemodelle beim follikulären Lymphom	28
FLIPI unter Immunchemotherapie	28
Prognosemodelle bei der akuten myeloischen Leukämie	30
Prognostic Index for Cytogenetically Normal AML (PINA)	30
Schlussfolgerungen und Ausblick	32
Literaturverzeichnis	34
Fachpublikationen	41

Zusammenfassung

Klinische Epidemiologie und medizinische Biometrie

Klinische Epidemiologie ist die wissenschaftliche Untersuchung klinischer Fragestellungen mit Methoden der klassischen Epidemiologie (Sackett 1969). Klinisch-epidemiologische Forschung beginnt mit einer patientenbezogenen Fragestellung, meist zur Diagnose einer Erkrankung, zum Vergleich verschiedener Behandlungsmöglichkeiten oder zur Einschätzung des zukünftigen Krankheitsverlaufs. Um die klinische Fragestellung zu untersuchen, werden geeignete Beobachtungen (Daten) gesammelt und mit mathematischen und statistischen Methoden ausgewertet.

Die klassische Epidemiologie, die sich mit Häufigkeit und Risikofaktoren von Erkrankungen in der Bevölkerung befasst, gewinnt ihre Erkenntnisse in der Regel durch die Untersuchung bevölkerungsbasierter Gruppen. In der klinischen Epidemiologie werden die Methoden der Sammlung und Auswertung empirischer Daten, die für die epidemiologische Forschung entwickelt wurden, übertragen auf die Untersuchung krankheitsbezogener – im Gegensatz zu bevölkerungsbezogener – Gruppen. Ein weiterer Aspekt epidemiologischer Methoden, der in der klinischen Epidemiologie Anwendung findet, ist die kritische Berücksichtigung systematischer Fehler und zufälliger Einflüsse bei der Übertragung von Forschungsergebnissen auf allgemeine Aussagen. Hierbei bedient sich die klinische Epidemiologie – wie auch die klassische Epidemiologie – mathematischer und statistischer Methoden. Sie wendet damit Ergebnisse der medizinischen Biometrie an, einer Wissenschaft, die sich mit der Entwicklung und Anwendung mathematischer und statistischer Methoden bei der Untersuchung medizinischer Fragestellungen befasst (International Biometric Society 2010).

Mit den in klinisch-epidemiologischen Studien erhobenen Daten werden den Fragestellungen zugrunde liegende wissenschaftliche Aussagen (Hypothesen) generiert oder auf ihre Plausibilität überprüft. Die klinische Epidemiologie leistet einen grundlegenden Beitrag zur evidenzbasierten Medizin, indem sie empirische Belege für klinische Hypothesen liefert, deren kritische Bewertung wissenschaftlich fundierte Entscheidungen in der Patientenversorgung ermöglichen kann.

Am Beispiel meiner Arbeiten zur Therapie- und Prognoseforschung bei malignen Lymphomen und der akuten myeloischen Leukämie stelle ich dar, welchen Beitrag die klinische Epidemiologie und die medizinische Biometrie zum Erkenntnisgewinn in der Medizin leisten können. Einen Schwerpunkt setze ich hierbei auf methodische Aspekte, die zur Beantwortung der jeweiligen Fragestellungen besonders wichtig waren.

Therapieforschung beim Mantelzell-Lymphom

Das Mantelzell-Lymphom ist eine Krebserkrankung des Immunsystems, ein malignes Lymphom, bei dem sich genetisch veränderte B-Lymphozyten unkontrolliert vermehren (Swerdlow, Campo, Harris et al. 2008). Während das Mantelzell-Lymphom in Europa bereits 1974 mit der Kiel-Klassifikation (Gerard-Marchant, Hamlin, Lennert et al. 1974) als zentrozytisches Lymphom definiert worden war, wurde es erst 1994 mit der REAL-Klassifikation (Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms) weltweit als eigenständige diagnostische Entität anerkannt (Harris, Jaffe, Stein et al. 1994). Mit einer jährlichen Inzidenz von 1-2 Neuerkrankungen pro 100.000 Einwohner in Westeuropa ist das Mantelzell-Lymphom (MCL) auch im Vergleich zu anderen malignen Lymphomen relativ selten (Dreyling, Geisler, Hermine et al. 2014).

Das Mantelzell-Lymphom wächst typischerweise in mehreren Lymphknotenregionen des Körpers und schwemmt häufig in extralymphatische Gewebe wie Blut und Knochenmark aus (Swerdlow, Campo, Harris et al. 2008), so dass es meist bereits bei Erstdiagnose schon in einem fortgeschrittenen Stadium nach der Ann-Arbor-Klassifikation vorliegt (Hoster, Dreyling, Klapper et al. 2008). Trotz meist gutem Ansprechen auf Chemotherapie kommt es im weiteren Verlauf in der Regel zu Rückfällen (Dreyling, Thieblemont, Gallamini et al. 2013). Das Mantelzell-Lymphom gilt bislang als unheilbar und hat im Vergleich zu anderen malignen B-Zell-Lymphomen eine besonders ungünstige Langzeitprognose ((Hiddemann, Unterhalt, Herrmann et al. 1998), Daten des Tumorregisters München (Dreyling (Hrsg.) 2015)).

Die MCL Younger-Studie des European MCL Network

1) Hermine O,* Hoster E,* Walewski J, Bosly A, Stilgenbauer S, Thieblemont C, Szymczyk M, Bouabdallah R, Kneba M, Hallek M, Salles G, Feugier P, Ribrag V, Birkmann J, Forstpointner R, Haioun C, Hanel M, Casasnovas RO, Finke J, Peter N, Bouabdallah K, Sebban C, Fischer T, Dührsen U, Metzner B, Maschmeyer G, Kanz L, Schmidt C, Delarue R, Brousse N, Klapper W, Macintyre E, Delfau-Larue MH, Pott C, Hiddemann W, Unterhalt M, Dreyling M (2016). "Addition of high-dose cytarabine to immunochemotherapy before autologous stem-cell transplantation in patients aged 65 years or younger with mantle cell lymphoma (MCL Younger): a randomised, open-label, phase 3 trial of the European Mantle Cell Lymphoma Network." *Lancet* 388(10044): 565-575. (Hermine, Hoster, Walewski et al. 2016)

Seit der internationalen Anerkennung des Mantelzell-Lymphoms als eigenständige Erkrankung hat sich die Deutsche Studiengruppe für niedrig-maligne Lymphome (German Low-Grade Lymphoma Study Group, GLSG) mit der Frage befasst, wie sich der Krankheitsverlauf beim Mantelzell-Lymphom durch neue Therapiestrategien verbessern lässt. Die Ergebnisse der ersten randomisierten Studie des European MCL Network, zu dem sich die GLSG mit weiteren europäischen klinischen Forschergruppen zusammengeschlossen hat, hatten bestätigt, dass bei jüngeren Patienten mit fortgeschrittenem Mantelzell-Lymphom eine Hochdosis-Radiochemotherapie gefolgt von einer

autologen Stammzelltransplantation im Vergleich zu einer Erhaltungstherapie mit Interferon- α zu einer verlängerten Krankheitskontrolle nach anthrazyklinhaltiger Chemotherapie führt (Dreyling, Lenz, Hoster et al. 2005). Außerdem hatten die Ergebnisse der vorausgehenden randomisierten Studie GLSG2000 gezeigt, dass durch die Kombination der anthrazyklinhaltigen Chemotherapie CHOP (Cyclophosphamid, Adriamycin, Vincristin, Prednison) mit Rituximab, einem Antikörper gegen den B-Zellmarker CD20, R-CHOP, im Vergleich zu CHOP ohne Rituximab höhere Ansprechraten und eine verlängerte Zeit bis zum Therapieversagen erzielt werden kann (Lenz, Dreyling, Hoster et al. 2005). Auf Basis dieser Ergebnisse stellte die Immunchemotherapie R-CHOP gefolgt von autologer Stammzelltransplantation eine empfohlene Erstlinientherapie für jüngere Patienten mit Mantelzell-Lymphom dar.

Daten von Pilotstudien aus den USA und Frankreich hatten Hinweise ergeben, dass mit Hinzunahme von hochdosiertem Cytarabin zur Immunchemotherapie R-CHOP vor autologer Transplantation deutlich häufigere und länger andauernde Remissionen erzielt werden könnten. Ausgehend von diesen Ergebnissen führte das European MCL Network ab 2004 mit der European MCL Younger-Studie eine randomisierte Studie durch, die das Ziel hatte zu überprüfen, ob eine alternierende Immunchemotherapie mit R-CHOP und dem Hochdosis-Cytarabin-haltigen Schema R-DHAP (Rituximab, Hochdosis-Cytarabin, Cisplatin) im Vergleich zu R-CHOP vor der autologen Stammzelltransplantation eine Verbesserung des Krankheitsverlaufs bei jüngeren Patienten mit bislang unbehandeltem Mantelzell-Lymphom bewirkt.

Bei einer randomisierten Studie erfolgt die Zuweisung des Patienten zur Studientherapie durch eine Zufallsentscheidung; weder der Patient noch der behandelnde Arzt oder andere Personen sollen diese Entscheidung beeinflussen können. Ziel der Randomisierung ist es, bekannte und unbekannte Störfaktoren beim Vergleich der Studientherapien möglichst gleich auf die Behandlungsgruppen zu verteilen, um eine Verzerrung des beobachteten Therapieeffekts zu verhindern. Randomisierte Studien stellen den Goldstandard der verschiedenen Erhebungsformen in der klinischen Forschung und der evidenzbasierten Medizin dar, da sie am ehesten gesicherte Aussagen über die Wirkung von Therapien zulassen. Die MCL Younger-Studie wurde als randomisierte Studie durchgeführt, um die in Vorstudien gewonnene Hypothese einer verbesserten Krankheitskontrolle durch Hochdosis-Cytarabin konfirmatorisch zu prüfen.

Primärer Endpunkt der MCL Younger-Studie, mit dem die Wirksamkeit der beiden Studientherapien bestimmt wurde, war die Zeit bis zum Therapieversagen ab dem Zeitpunkt der Randomisierung. Als Therapieversagen galten das Ausbleiben eines Tumoransprechens (Nichterreichen einer kompletten oder partiellen Remission nach mindestens 4 Zyklen Immunchemotherapie gemäß internationalen Konsensuskriterien (Cheson, Horning, Coiffier et al. 1999)), der Progress des Lymphoms oder der Tod. Bei malignen Lymphomen stellt das progressionsfreie Überleben von Randomisierung bis zum Progress des Lymphoms oder bis zum Tod einen allgemein anerkannten klinischen Endpunkt dar

(Cheson, Horning, Coiffier et al. 1999). Beim Mantelzell-Lymphom gilt das Nichterreichen einer Remission auch ohne Progress als Versagen der Therapie und stellt eine Indikation für eine neue Therapie (Salvagetherapie) dar. Für die MCL Younger-Studie erschien das progressionsfreie Überleben daher insofern als nicht optimal, als die Anwendung einer Salvagetherapie, welche dem behandelnden Arzt nach fehlendem Ansprechen auf Immunchemotherapie auch ohne Progress freigestellt war, die Bewertung der eigentlichen Studientherapien unangemessen verzerren konnte.

Der Vergleich des primären Endpunkts zwischen den beiden Therapiegruppen erfolgte mit einem konfirmatorischen statistischen Hypothesentest. Die Plausibilität der sog. Nullhypothese, dass die Hochdosis-Cytarabin-haltige Therapie zu keiner Verlängerung der Zeit bis zum Therapieversagen führt, sollte an Hand der Studiendaten überprüft werden und damit eine Entscheidung für oder gegen diese Nullhypothese getroffen werden. Falls die Nullhypothese wahr ist, sollte sie nur mit einer Wahrscheinlichkeit von 5% abgelehnt werden (Signifikanzniveau 5%); die Wahrscheinlichkeit, sich (fälschlich) für eine in Wahrheit nicht-überlegene Hochdosis-Cytarabin-haltige Therapie zu entscheiden (Fehler 1. Art), wurde durch die Anwendung des statistischen Tests auf 5% begrenzt. Da der Krankheitsverlauf auch bei Anwendung einer bekannten Studientherapie bei den verschiedenen Patienten sehr unterschiedlich ist und diese Unterschiede teilweise nur durch Zufall erklärt werden können, ist es nicht möglich, die Hypothese über die Therapieeffektivität mit Daten zu beweisen; die Anwendung des statistischen Tests ermöglicht hier die Trennung systematischer von zufälligen Effekten und erlaubt eine Entscheidung zwischen klinischen Hypothesen unter Kontrolle der Fehlerwahrscheinlichkeit.

In der MCL Younger-Studie wurde die Nullhypothese auf Grund der Studienergebnisse mit 497 randomisierten Patienten verworfen und damit die primäre Hypothese einer verlängerten Zeit bis zum Therapieversagen im Hochdosis-Cytarabin-Arm angenommen. Die mediane Zeit bis zum Therapieversagen wurde im Hochdosis-Cytarabin-Arm auf 9.1 Jahre im Vergleich zu 3.9 Jahren im Kontrollarm geschätzt; dies entsprach einer geschätzten Reduktion des relativen Risikos für ein Therapieversagen um 44% (Hazard Ratio 0.56). Während der Induktionstherapie traten im Hochdosis-Cytarabin-Arm zwar häufiger hämatologische und renale Toxizitäten auf, das Nebenwirkungsprofil während und nach der Hochdosis-Radiochemotherapie war aber in beiden Studienarmen vergleichbar und vertretbar.

Während ich zur Zeit der Planung der MCL Younger-Studie noch nicht für das European MCL Network tätig war, lagen die statistische Überwachung im Verlauf der Studie und die abschließende statistische Auswertung der Studiendaten in meiner Verantwortung. Die statistische Überwachung der Studie bestand in regelmäßigen Zwischenauswertungen beim Vergleich des primären Endpunkts zwischen den Therapiegruppen. Sie hatte den Zweck, die Randomisierung frühzeitig beenden zu können, falls die Studiendaten anzeigten, dass die experimentelle Therapie der Standardtherapie deutlicher überlegen war als angenommen oder keine Aussicht auf den Nachweis einer relevanten Überlegenheit der experimentellen Therapie mehr bestand. In beiden Fällen wäre die

wissenschaftliche Frage der Studie frühzeitig beantwortet und ab diesem Zeitpunkt die Randomisierung zwischen den beiden Therapiearmen ethisch nicht mehr gerechtfertigt.

Wenn das Studiendesign aus ethischen Gründen Zwischenauswertungen für die primäre Fragestellung vorsieht, müssen sowohl bei der statistischen Planung als auch bei der statistischen Auswertung besondere methodische Anpassungen erfolgen. Eine einfache wiederholte Anwendung desselben statistischen Tests mit einem festen Signifikanzniveau auf während der Studie akkumulierenden Daten führt zu einer deutlich größeren Gesamtwahrscheinlichkeit, eine in der Grundgesamtheit zutreffende Nullhypothese bei einer Zwischenauswertung fälschlicherweise abzulehnen. Bei der statistischen Planung wird daher vorab eine Entscheidungsstrategie für den primären statistischen Test bei den Zwischenauswertungen festgelegt, die sicherstellt, dass die Gesamtwahrscheinlichkeit für einen Fehler 1. Art, also die Nullhypothese fälschlicherweise abzulehnen, wie gewünscht begrenzt bleibt. In vielen Fällen geht die Möglichkeit einer frühzeitigen Entscheidung durch Zwischenauswertungen mit der Notwendigkeit einer größeren maximalen Stichprobe einher.

In der MCL Younger-Studie wurden Zwischenauswertungen mit dem sog. triangulären Test nach Whitehead (Whitehead 1992) mittels der speziellen Software PEST (Planning and Evaluation of Sequential Trials, Version 3, Reading University, England) geplant und durchgeführt. Der statistische Test entschied am 5. März 2010 bei der 19. Zwischenauswertung für die Überlegenheit der Hochdosis-Cytarabin-haltigen Therapie im Hinblick auf die Zeit bis zum Therapieversagen. Mit diesem Ergebnis war die primäre Frage der Studie beantwortet; gemäß Prüfplan wurde daher die Randomisierung zwischen den Studienarmen am 20. März 2010 beendet. In der MCL Younger-Studie fiel die Entscheidung für die Überlegenheit der Hochdosis-Cytarabin-haltigen Therapie nach Beobachtung von 103 Patienten mit Therapieversagen und damit nicht wesentlich früher als für eine entsprechende Studie ohne Zwischenauswertung benötigt worden wäre (105 Patienten mit Therapieversagen).

Obwohl für die Beantwortung der primären Fragestellung nicht notwendig, ist es für die Interpretation der Studienergebnisse in der Regel hilfreich, bei der statistischen Auswertung der Studiendaten einen p-Wert und einen Schätzwert für den Therapieeffekt zu berechnen. Der p-Wert ist die unter der Nullhypothese bestimmte Wahrscheinlichkeit für die tatsächlich beobachteten Studiendaten oder mögliche weiter von der Nullhypothese abweichende Daten. Je kleiner der p-Wert, umso unwahrscheinlicher sind die beobachteten Studiendaten unter der Nullhypothese, d.h. umso weniger plausibel erscheint die Nullhypothese angesichts der beobachteten Studiendaten. Mit dem Signifikanzniveau als obere Grenze für diese Wahrscheinlichkeit kann der p-Wert auch für eine statistische Testentscheidung verwendet werden. Sieht das Studiendesign Zwischenauswertungen vor, so kann das Problem des multiplen Testens bei den Zwischenauswertungen entweder durch eine Anpassung des Signifikanzniveaus oder durch eine korrigierte Berechnung des p-Werts kontrolliert werden.

Ohne Berücksichtigung der Zwischenauswertungen bei der statistischen Analyse hätte sich in der MCL Younger-Studie zum Zeitpunkt der Testentscheidung ein p-Wert von $p=0.025$ ergeben; der nach (Whitehead 1992) für die Zwischenauswertungen korrigierte p-Wert errechnete sich zu $p=0.0389$. Die abschließende statistische Auswertung der MCL Younger-Studie für die Publikation erfolgte jedoch mit dem Datenstand vom 4. Januar 2016, also mit einem deutlichen zeitlichen Abstand zur entscheidenden Zwischenauswertung. In diesem Zeitraum waren für den primären Endpunkt, die Zeit bis zum Therapieversagen, noch weitere Daten beobachtet worden, weil einige Patienten zum Zeitpunkt der Testentscheidung zwar randomisiert, deren Daten aber noch nicht vollständig dokumentiert waren, und weil die Zeit bis zum Therapieversagen bei Patienten ohne bisheriges Therapieversagen in diesem Zeitraum noch weiter nachbeobachtet worden waren. Da die Therapie der Studienpatienten, die vor der Testentscheidung randomisiert waren, nicht mit der Testentscheidung verändert wurde, war es wünschenswert und mit einer sog. Overrunning-Analyse (Whitehead 1992) für den p-Wert möglich, diese zusätzlichen Daten für die abschließende statistische Auswertung zu verwenden. Ohne Korrektur für die Zwischenauswertungen hätte sich bei der abschließenden statistischen Analyse ein überoptimistischer p-Wert von 2.1×10^{-7} ergeben. Der für die Zwischenauswertungen korrigierte p-Wert bei der Overrunning-Analyse zur Publikation der MCL-Younger-Studie errechnete sich zu $p=0.0382$; das Ergebnis der Overrunning-Analyse war also konsistent zur Testentscheidung bei der Zwischenauswertung.

Ein frühzeitiger Abbruch aufgrund der Ergebnisse einer Zwischenauswertung erfolgt häufig nach Beobachtung besonders extremer Unterschiede in einer kleineren Stichprobe, der zum Teil auch auf zufällige Schwankungen zurückzuführen sein wird. Ein auf einer solchen Stichprobe geschätzter Effekt wird daher in der Regel extremer sein als der wahre Effekt. Die Berechnung von Effektschätzern nach einer entscheidenden Zwischenauswertung sollte diese Abweichung korrigieren. Die Berechnung eines solchen erwartungstreuen Schätzers für den Therapieeffekt gestaltet sich jedoch methodisch schwierig. Das Programm PEST berechnet den sog. bias-korrigierten Maximum-Likelihood-Schätzer für die Hazard-Ratio approximativ unter vereinfachenden Annahmen (Whitehead 1992). Es ist jedoch nicht möglich, ein Konfidenzintervall für den Therapieeffekt zu berechnen (Whitehead 1992). Diese Einschränkungen bei der statistischen Auswertung von Studiendaten bei konfirmatorischen statistischen Tests mit Zwischenauswertungen sind vielfach nicht hinreichend bekannt. Im Prozess der Veröffentlichung der Ergebnisse der MCL-Younger-Studie musste ich daher klarstellen, dass entgegen dem Journal-Style von Lancet bei der Darstellung der Ergebnisse zum primären Endpunkt (Abbildung 2A in (Hermine, Hoster, Walewski et al. 2016)) die Angabe eines Konfidenzintervalls für die Hazard-Ratio für die Zeit bis zum Therapieversagen einerseits methodisch nicht möglich und andererseits für die Entscheidung der primären Fragestellung der Studie auch nicht notwendig war.

In der MCL Younger-Studie ergab sich bei der abschließenden statistischen Analyse der Zeit bis zum Therapieversagen ein bias-korrigierter Maximum-Likelihood-Schätzer für die Hazard-Ratio von 0.56;

dieser Wert unterschied sich deutlich vom Schätzwert 0.67 zum Zeitpunkt der Testentscheidung. Hier zeigte sich der Effekt der Hochdosis-Cytarabin-haltigen Therapie bei der abschließenden Analyse mit deutlich längerer Nachbeobachtung noch stärker als zum Zeitpunkt der Testentscheidung.

Die Ergebnisse der MCL Younger-Studie haben eine klare Evidenz dafür geschaffen, dass die Hinzunahme von Hochdosis-Cytarabin zu einer relevanten Verlängerung der Krankheitskontrolle in der Erstlinientherapie jüngerer Patienten mit fortgeschrittenem Mantelzell-Lymphom mit Immunchemotherapie und autologer Transplantation führt. Nur durch die Durchführung einer randomisierten Studie konnte diese durch Pilotstudien generierte Hypothese bestätigt werden. Die Ergebnisse der Studie haben zur Etablierung der alternierenden Hochdosis-Cytarabin-haltigen-Therapie vor autologer Transplantation als von internationalen klinischen Guidelines empfohlenen Therapien bei jüngeren Patienten mit Mantelzell-Lymphom geführt (European Society for Medical Oncology, ESMO Clinical Practice Guidelines (Dreyling, Geisler, Hermine et al. 2014), NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (National Comprehensive Cancer Network Non-Hodgkin's Lymphomas 2016)).

Die MCL Elderly-Studie des European MCL Network

2) Kluin-Nelemans HC, Hoster E, Hermine O, Walewski J, Trneny M, Geisler CH, Stilgenbauer S, Thieblemont C, Vehling-Kaiser U, Doorduijn JK, Coiffier B, Forstpointner R, Tilly H, Kanz L, Feugier P, Szymczyk M, Hallek M, Kremers S, Lepeu G, Sanhes L, Zijlstra JM, Bouabdallah R, Lugtenburg PJ, Macro M, Pfreundschuh M, Prochazka V, Di Raimondo F, Ribrag V, Uppenkamp M, Andre M, Klapper W, Hiddemann W, Unterhalt M, Dreyling MH (2012). "Treatment of older patients with mantle-cell lymphoma." *N Engl J Med* 367(6): 520-531. (Kluin-Nelemans, Hoster, Hermine et al. 2012)

Bei Patienten mit Mantelzell-Lymphom, für die eine Hochdosistherapie mit nachfolgender autologer Stammzelltransplantation beispielsweise auf Grund eines höheren Alters nicht in Frage kommt, stellte sich ebenfalls die Frage, durch welche weiteren Therapiestrategien der Krankheitsverlauf verbessert werden könnte. Mit ihrer GLSG2000-Studie hatte die GLSG die Immunchemotherapie mit R-CHOP gefolgt von einer Erhaltungstherapie mit Interferon- α als effektive Therapie beim Mantelzell-Lymphom etabliert (Lenz, Dreyling, Hoster et al. 2005). Andere klinische Studien hatten die Hypothese aufgestellt, dass eine Kombinationschemotherapie mit Fludarabin beim Mantelzell-Lymphom zu einem verbesserten Krankheitsverlauf führen könnte; eine Vermeidung kardiotoxischer Nebenwirkungen der Anthrazykline erschien in dem älteren Patientenkollektiv besonders attraktiv. Eine weitere randomisierte Studie der GLSG hatte gezeigt, dass bei Patienten mit bereits rezidiertem Mantelzell-Lymphom eine Erhaltungstherapie mit dem Anti-CD20-Antikörper Rituximab zu einer deutlich verlängerten Remissionsdauer im Vergleich zu therapiefreier Nachbeobachtung führt (Forstpointner, Unterhalt, Dreyling et al. 2006).

Das European MCL Network begann daher 2004 die zweifach randomisierte MCL Elderly-Studie, welche bei Patienten mit fortgeschrittenem Mantelzell-Lymphom, für die eine Hochdosistherapie nicht in Frage kommt, prüfen sollte, ob einerseits durch die Fludarabin-haltige Immunchemotherapie R-FC (Rituximab, Fludarabin, Cyclophosphamid) im Vergleich zu R-CHOP und andererseits durch eine Erhaltungstherapie mit Rituximab im Vergleich zu Interferon- α eine Verbesserung des Krankheitsverlaufs erzielt werden könne. Die Patienten der MCL Elderly-Studie wurden zunächst vor Therapiebeginn zwischen den beiden Immunchemotherapiearmen R-FC und R-CHOP randomisiert; bei Patienten, die eine Remission erreichten, erfolgte eine zweite zufällige Zuteilung zu einem der beiden Erhaltungstherapiearme (Rituximab und Interferon- α). Ein zufälliges Ungleichgewicht zwischen den Erhaltungstherapiearmen in Bezug auf die Induktionstherapiearme wurde durch eine nach dem Ergebnis der ersten Randomisierung geschichtete (stratifizierte) zweite Randomisierung verhindert.

Für den Vergleich der Erhaltungstherapien stellte die Remissionsdauer ab der zweiten Randomisierung bis zum Progress des Lymphoms oder zum Tod den Endpunkt der Wahl dar, da er dem etablierten Endpunkt, dem progressionsfreien Überleben entsprach. Für den Vergleich der Immunchemotherapien erschien ein primärer Endpunkt wie das progressionsfreie Überleben oder die Zeit bis zum Therapieversagen, der den Zeitraum der Erhaltungstherapie umfasste, eher ungünstig, weil damit nicht klar zwischen Effekten von Induktions- und Erhaltungstherapie unterschieden werden könnte. Somit kamen als frühe Indikatoren der Effektivität der Induktionstherapie sowohl die Rate kompletter Remissionen als auch die Gesamtremissionsrate zum Ende der Induktionstherapie in Frage. Da aufgrund der Vorstudien keine relevante Verbesserung der ohnehin hohen Gesamtremissionsraten zu erwarten war, stellte die Rate kompletter Remissionen den primären Endpunkt beim Vergleich der Induktionstherapien dar. Die Gesamtremissionsrate wurde als sekundärer Endpunkt während der Studie laufend überwacht, um unerwartete klinisch relevante Unterschiede frühzeitig zu entdecken.

Für jeden der beiden Therapieabschnitte, Induktion und Erhaltung, erfolgte ein Vergleich des jeweiligen primären Endpunkts zwischen den randomisierten Therapiegruppen durch einen konfirmatorischen Hypothesentest. Die beiden Fragestellungen wurden als unabhängig betrachtet, da unabhängige Konsequenzen gezogen werden sollten: einerseits eine Entscheidung zwischen den Induktionstherapien, andererseits eine weitere Entscheidung zwischen den Erhaltungstherapien. Ein möglicher Einfluss der Induktionstherapie auf die Ergebnisse der Erhaltungstherapie (Interaktionseffekt) wurde zwar nicht erwartet, bei der statistischen Auswertung der Studie aber untersucht und bei der Interpretation der Studienergebnisse berücksichtigt.

In der MCL Elderly-Studie konnte auf Grund der Daten die Alternativhypothese einer höheren Rate kompletter Remissionen nach R-FC im Vergleich zu R-CHOP nicht angenommen werden. Die Wahrscheinlichkeit, sich bei in Wahrheit nicht höherer Rate kompletter Remissionen nach R-FC dennoch aufgrund der Studiendaten für R-FC zu entscheiden (das Signifikanzniveau), war auf 5%

festgelegt worden. Mit 485 auswertbaren Patienten lag die Wahrscheinlichkeit, eine tatsächliche relevante Erhöhung des Anteils kompletter Remissionen von 50% auf 65% zu entdecken, bei 95%. Diese hohe statistische Power von 95% stellte sicher, dass eine falsche Entscheidung gegen R-FC bei einer in Wahrheit relevant verbesserten Rate kompletter Remissionen nur mit 5% Wahrscheinlichkeit aufgrund zufälliger Schwankungen in den Daten getroffen wurde (Fehler 2. Art). Die statistische Power, also die Wahrscheinlichkeit, einen relevanten Unterschied in einer Studie tatsächlich zu entdecken, lässt sich nur durch eine angemessene Fallzahl realisieren, deren Größe vorab in einer Fallzahlplanung bestimmt werden kann.

Im Rahmen der statistischen Überwachung des sekundären Endpunkts, der Gesamtremissionsrate, konnte die Nullhypothese gleicher Raten nicht abgelehnt werden. Außerdem zeigten sich im R-FC-Arm ein höherer Anteil von frühzeitigem Progress und eine deutlich verkürzte Gesamtüberlebenszeit mit 4-Jahres-Überlebensraten von 47% im Vergleich zu 62% im R-CHOP-Arm; die Wahrscheinlichkeit, bei in Wahrheit gleichen Überlebenswahrscheinlichkeiten einen ähnlich großen oder noch größeren Unterschied zu beobachten, lag bei nur 0,5% ($p=0.005$). Die Therapie mit R-FC zeigte deutlich häufigere und schwerwiegendere hämatologische Nebenwirkungen, welche teilweise die Anwendung einer nachfolgenden Erhaltungstherapie erschwerten. Die enttäuschend schlechten Ergebnisse für die Fludarabin-haltige Therapie in der MCL Elderly-Studie waren aufgrund der Vorstudien unerwartet. Nur durch eine ausreichend große randomisierte Studie konnte aufgezeigt werden, dass die R-FC-Therapie der MCL Elderly-Studie für ältere Patienten mit Mantelzell-Lymphom der R-CHOP-Therapie nicht überlegen war.

Beim randomisierten Vergleich der beiden Erhaltungstherapien nach Ansprechen auf die Immunchemotherapie in der MCL Elderly-Studie konnte die primäre Hypothese einer verlängerten Remissionsdauer im Rituximab-Arm im Vergleich zum Interferon-Arm aufgrund der Studienergebnisse mit 274 für diese Fragestellung auswertbaren Patienten bestätigt werden. Auch hier war die Wahrscheinlichkeit für eine Annahme der Hypothese verschiedener Remissionsdauern aufgrund rein zufälliger Unterschiede durch den statistischen Test auf 5% begrenzt. Das Risiko für ein Ende der Remission durch Progress oder Tod war im Rituximab-Arm um 45% reduziert (Hazard Ratio 0.55), die Wahrscheinlichkeit, 4 Jahre nach Randomisierung für eine Erhaltungstherapie in Remission zu sein, wurde auf 58% im Rituximab-Arm gegenüber 29% im Interferon-Arm geschätzt. Die verlängerte Remissionsdauer im Rituximab-Arm zeigte sich vor allem in der Gruppe der Patienten, die für R-CHOP randomisiert waren; in dieser Gruppe konnte auch eine deutlich verlängerte Gesamtüberlebenszeit beobachtet werden mit geschätzten 4-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeiten von 87% im Rituximab-Arm gegenüber 63% im Interferon-Arm.

Auch bei der Planung der MCL Elderly-Studie war ich noch nicht für das European MCL Network tätig. Ich übernahm im Laufe der Studie dann die statistische Überwachung und hatte die Verantwortung für die statistische Analyse der Studiendaten für die Publikation. Ein wichtiger Aspekt bei der Interpretation der Ergebnisse für die Erhaltungstherapie im Rahmen der MCL Elderly-Studie

war der Einfluss der Induktionstherapie, den ich mit mehreren explorativen statistischen Analysen untersuchte. So zeigte sich innerhalb des R-FC-Induktionstherapiearms weder bei der Remissionsdauer noch beim Gesamtüberleben ein Unterschied zwischen einer Erhaltungstherapie mit Interferon- α oder Rituximab. Aufgrund höherer Toxizität während der Induktion konnten im R-FC-Induktionsarm deutlich weniger Patienten für eine Erhaltungstherapie randomisiert werden als im R-CHOP-Induktionsarm. Dies führte dazu, dass nur 42% der für eine Erhaltungstherapie randomisierten Patienten während der Induktionsphase im R-FC-Arm waren, und damit die R-FC-Subgruppe kleiner war als die R-CHOP-Gruppe.

Subgruppen haben in der Regel im Vergleich zur Gesamtgruppe eine nicht ausreichende statistische Aussagekraft, wenn die Studie einen Umfang hat, der gerade ausreicht, um die primäre Fragestellung in der Gesamtgruppe zu beantworten. Daher kann für Subgruppen in der Regel nicht geklärt werden, ob für sie ein Therapieeffekt vorliegt; mit der Analyse von Subgruppen können hierüber allenfalls Hypothesen aufgestellt werden, die in weiteren Studien überprüft werden können. Andererseits kann mit sog. Interaktionsanalysen untersucht werden, ob sich die Stärke des Therapieeffekts zwischen verschiedenen Subgruppen unterscheidet, also eine Modifikation des Therapieeffekts durch bestimmte Charakteristika vorliegt. Die Interaktionsanalyse in der MCL Elderly-Studie gab deutliche Hinweise auf eine Modifikation des Effekts der Erhaltungstherapie durch den Induktionstherapiearm sowohl bei der Remissionsdauer ($p=0.037$) als auch beim Gesamtüberleben ($p=0.0185$). Die Ergebnisse sprachen dafür, dass der Effekt der Rituximab-Erhaltung nach R-CHOP deutlich stärker ist als nach R-FC.

Während des Review-Prozesses zur Publikation der MCL-Elderly-Studie wurde die möglicherweise fehlende Effektivität der Rituximab-Erhaltung nach Induktion mit R-FC von den Gutachtern kritisch hinterfragt. Der primäre Endpunkt für den Vergleich der Effektivität, die Remissionsdauer, war eine Zeit-Ereignis-Zielgröße, die entweder den klinischen Progress oder aber den Tod ohne vorausgehenden klinischen Progress als Ereignis wertete. Hierbei gibt die Zeit bis zum klinischen Progress einen Hinweis auf die biologische Wirksamkeit, während die Zeit bis zum Tod ohne klinischen Progress zu einem Teil die Langzeit-Toxizität widerspiegelt. Als primäre Zielgröße war der kombinierte Endpunkt gewählt worden, da beide Ereignisse, der klinische Progress und der Tod in klinischer Remission, stark patientenrelevant sind. Für die explorative Frage der biologischen Wirksamkeit der Rituximab-Erhaltung nach Induktion mit R-FC erschien es aber interessant, den Effekt der Erhaltungstherapie auf die Zeit bis zum klinischen Progress und die Zeit bis zum Tod ohne klinischen Progress zu differenzieren. Methodisch handelt es sich beim klinischen Progress und beim Tod ohne klinischen Progress um konkurrierende Ereignisse, bei denen das Auftreten des einen eine Beobachtung des anderen unmöglich macht. Competing-Risk-Methoden ermöglichen die Schätzung der kumulativen Inzidenz (Neuauftrittswahrscheinlichkeit) von bestimmten Ereignissen unter Berücksichtigung von ebenfalls vorhandenen konkurrierenden Ereignissen.

Die Competing-Risk-Analyse im R-FC-Induktionsarm der MCL Elderly-Studie deckte auf, dass unter Interferon-Erhaltung die kumulative Inzidenz des klinischen Progresses während der ersten vier Jahre bis auf 53% anstieg, während die kumulative Inzidenz des Todes in klinische Remission innerhalb der ersten zwei Jahre auf 10% anstieg und danach konstant blieb. Im Gegensatz dazu waren im Rituximab-Erhaltungsarm die kumulativen Inzidenzraten für klinischen Progress bzw. Tod in klinischer Remission nach 4 Jahren mit 23% bzw. 20% vergleichbar. Der Gray-Test für den Vergleich der beiden Erhaltungstherapiearme im Hinblick auf die kumulative Inzidenz des klinischen Progresses gab mit $p=0.020$ einen Hinweis darauf, dass die Rituximab-Erhaltung nach R-FC durchaus eine biologische Wirkung hat. Jedoch erklärte die hohe kumulative Inzidenz von Todesfällen in klinischer Remission nach R-FC und R-Erhaltung den möglicherweise fehlenden Effekt in Bezug auf die Remissionsdauer. Somit schien die stärkere Toxizität der Induktionstherapie mit R-FC im Setting der MCL Elderly-Studie eine relevante biologische Wirksamkeit der Erhaltungstherapie aufzuheben, so dass sich für den Patienten kein relevanter Vorteil mehr ergab. Diese Ergebnisse unterstreichen auch die Wahl des kombinierten Endpunkts als primären Studienendpunkt im Sinne der Patientenrelevanz.

Die Ergebnisse der MCL Elderly-Studie etablierten die Erhaltungstherapie mit Rituximab als in internationalen klinischen Guidelines empfohlene Konsolidierungstherapie nach R-CHOP (ESMO Clinical Practice Guidelines (Dreyling, Geisler, Hermine et al. 2014), NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (National Comprehensive Cancer Network Non-Hodgkin's Lymphomas 2016)). Die Ergebnisse der MCL Elderly-Studie haben auch dazu geführt, dass der Gemeinsame Bundesausschuss (GBA) am 17. März 2016 beschloss, den Off-Label-Use von Rituximab in der Primärtherapie beim Patienten mit fortgeschrittenem Mantelzell-Lymphom in Kombination mit CHOP sowie die Erhaltungstherapie mit Rituximab nach Erstlinientherapie mit R-CHOP bei Patienten, die nicht für eine Hochdosistherapie in Frage kommen, zuzulassen (Bundesministerium für Gesundheit 2016). Dies ist für die Versorgung der Patienten bedeutend, da der Hersteller von Rituximab aus wirtschaftlichen Gründen die Zulassung von Rituximab beim Mantelzell-Lymphom nicht anstrebte.

Prognosefaktoren und Prognosemodelle beim Mantelzell-Lymphom

Als Teilbereich der klinischen Epidemiologie untersucht die Prognoseforschung, inwieweit man den individuellen Verlauf einer bestimmten Erkrankung vorhersagen kann. Bei den meisten Erkrankungen haben, neben den verschiedenen Behandlungen, individuelle Eigenschaften des Patienten und Charakteristika der Krankheit Einfluss auf den Krankheitsverlauf. Ein Ziel der Prognoseforschung ist es, solche Prognosefaktoren zu identifizieren und ihren Einfluss auf die Prognose quantitativ zu beschreiben. Ähnlich wie viele Erkrankungen mehrere verschiedene Ursachen haben, spielen für den Verlauf einer Erkrankung häufig mehrere Prognosefaktoren eine Rolle. In der Prognoseforschung geht es daher auch darum, unter den vielen verschiedenen Faktoren, die den Krankheitsverlauf beeinflussen könnten, möglichst alle wichtigen und voneinander unabhängigen Prognosefaktoren zu identifizieren. In den meisten Fällen wird ein Teil der Heterogenität des Krankheitsverlaufs unerklärbar bleiben und letztlich dem Zufall zugeschrieben. Das ist der Grund dafür, dass für die Untersuchung von Prognosefaktoren statistische Methoden eingesetzt werden, die gerade zufällige Unterschiede im Krankheitsverlauf berücksichtigen.

Ein Prognosemodell, das den gemeinsamen Einfluss aller wichtigen Prognosefaktoren auf den Krankheitsverlauf beschreibt, kann eine genauere Vorhersage des individuellen Verlaufs ermöglichen. Aus der Prognoseforschung kann auch ein prognostischer Index hervorgehen, der Patienten auf Grund der individuellen Ausprägungen der wichtigen Prognosefaktoren in Gruppen mit unterschiedlichem Krankheitsverlauf einteilt. Ein prognostischer Index gibt die Möglichkeit, die Prognose eines individuellen Patienten in Abhängigkeit von seinen spezifischen Charakteristika grob abzuschätzen; er übersetzt die umfangreichen Informationen über Patienten- und Krankheitseigenschaften, die in der Regel beim Arzt zusammenlaufen, in eine Einschätzung der Prognose. Ein prognostischer Index kann auch einen Ansatzpunkt zur Erforschung neuer individualisierten Therapiestrategien bieten, bei denen die Behandlung entsprechend der Prognosegruppe modifiziert wird.

Die Kenntnis der relevanten unabhängigen Prognosefaktoren bei einer Erkrankung erleichtert die Interpretation von Forschungsergebnissen beispielsweise von Therapiestudien, indem sie eine Einschätzung des prognostischen Profils des Studienkollektivs und den Vergleich zwischen den Kollektiven verschiedener Studien ermöglichen. In der klinischen Forschung ist die Kenntnis der Prognosefaktoren wichtig, um deren Einfluss auf den Krankheitsverlauf bei der Bewertung von Therapie- und anderen Effekten herauszurechnen (Adjustierung).

Im Gegensatz zu Therapiestrategien können Prognosefaktoren als Eigenschaften des Patienten und seiner Erkrankung nicht durch den Forscher beeinflusst werden; Prognosestudien können daher in der Regel nicht als experimentelle, randomisierte Studien durchgeführt werden. Für meine Prognoseforschung beim Mantelzell-Lymphom konnte ich auf die umfangreichen Daten aus den randomisierten Studien der GLSG und des European MCL Network zurückgreifen. Patientenkollektive aus randomisierten Studien sind für die Prognoseforschung von besonderer

Bedeutung: die Daten werden prospektiv unter vorab festgelegten Kriterien erhoben und sind meist relativ vollständig im Vergleich zu retrospektiv erhobenen Daten; die Therapie ist innerhalb der Studienarme einheitlich festgelegt, so dass prognostische Effekte wenig durch die Therapie verzerrt werden. Bei der Interpretation der Ergebnisse von Prognosestudien auf Basis von Daten aus randomisierten Studien ist zu berücksichtigen, auf welche Population sich die Ergebnisse verallgemeinern lassen, da die Patientenkollektive randomisierter Studien aufgrund der speziellen Ein- und Ausschlusskriterien meist nicht für alle Patienten mit einer bestimmten Erkrankung repräsentativ sind.

Der Mantle Cell Lymphoma International Prognostic Index (MIPI)

3) Hoster E, Klapper W, Hermine O, Kluin-Nelemans HC, Walewski J, van Hoof A, Trneny M, Geisler CH, Di Raimondo F, Szymczyk M, Stilgenbauer S, Thieblemont C, Hallek M, Forstpointner R, Pott C, Ribrag V, Doorduijn J, Hiddemann W, Dreyling MH, Unterhalt M (2014). "Confirmation of the mantle-cell lymphoma International Prognostic Index in randomized trials of the European Mantle-Cell Lymphoma Network." *J Clin Oncol* 32(13): 1338-1346. (Hoster, Klapper, Hermine et al. 2014)

Mit dem Mantle Cell Lymphoma International Prognostic Index (MIPI) hatte ich 2008 den ersten für das Mantelzell-Lymphom spezifischen prognostischen Index entwickelt (Hoster, Dreyling, Klapper et al. 2008), unter Verwendung der Daten der randomisierten Studien GLSG1996 (Nickenig, Dreyling, Hoster et al. 2006), GLSG2000 (Lenz, Dreyling, Hoster et al. 2005) und der ersten randomisierten Studie des European MCL Network (Dreyling, Lenz, Hoster et al. 2005). Der MIPI definiert mit den diagnostischen Werten von Alter, dem Allgemeinzustand klassifiziert als ECOG-Performance-Status, der Serumaktivität der Laktatdehydrogenase (LDH) und der Leukozytenzahl im Blut drei Patientengruppen, deren Gesamtüberleben sich deutlich unterscheidet.

Bei der Entwicklung eines Prognosemodells werden die verfügbaren Daten extensiv statistisch ausgewertet, um ein Modell zu erhalten, das den Krankheitsverlauf möglichst genau vorhersagt. Hierbei besteht die Gefahr, aufgrund der Fülle der angewendeten statistischen Verfahren und der bei der Modellbildung getroffenen Entscheidungen ein Modell zu definieren, das zwar in dem verwendeten Datensatz eine große Vorhersagekraft hat, jedoch nicht auf zukünftige Patienten verallgemeinert werden kann. Interne Validierungsverfahren mit den Daten der Modellentwicklung, wie z.B. die Kreuzvalidierung oder Bootstrap-Methoden, können in der Phase der Modellentwicklung bereits Prognosemodelle ausschließen, die sehr stark an den verwendeten Datensatz angepasst sind und sich voraussichtlich nicht verallgemeinern lassen. Den überzeugendsten Nachweis der Validität und Generalisierbarkeit eines Prognosemodells zeigt sich jedoch in der Anwendung auf neuen, von der Modellentwicklung unabhängigen Daten.

Bereits bei der Entwicklung des MIPI hatte ich geplant, das neue Prognosemodell an der Patientenkohorte der damals noch rekrutierenden randomisierten Studien des European MCL

Network, MCL Younger und MCL Elderly, zu überprüfen. Bei dieser unabhängigen Validierung konnte ich bestätigen, dass der MIPI drei Patientengruppen mit deutlich unterschiedlichem Überleben definiert: die geschätzte 5-Jahres-Überlebensrate betrug in der besten prognostischen Gruppe 83%, in der mittleren 63% und in der schlechtesten Gruppe 34%. Die drei Prognosegruppen unterschieden sich auch im progressionsfreien Überleben mit einem Median von 5.8 Jahren in der besten prognostischen Gruppe, 3.8 Jahren in der mittleren, und 1.4 Jahren in der schlechtesten Gruppe. Die prognostische Bedeutung des MIPI hing nicht von den verschiedenen Therapiestrategien der Studien ab. Die vier klinischen Prognosefaktoren des MIPI, Alter, Allgemeinzustand, LDH und Leukozytenzahl, erwiesen sich als weiterhin unabhängig voneinander prognostisch relevant sowohl für das Gesamtüberleben als auch für das progressionsfreie Überleben.

Insgesamt konnte ich die prognostische Bedeutung des MIPI an einem großen Datensatz für Patienten mit Mantelzell-Lymphom bestätigen, die mit den gemäß den aktuellen klinischen Leitlinien empfohlenen Therapien behandelt wurden (Dreyling, Geisler, Hermine et al. 2014). Der MIPI wurde auch von mehreren anderen Forschergruppen validiert und wird international bei klinischen Studien und anderen wissenschaftlichen Projekten beim Mantelzell-Lymphom regelhaft verwendet. Die Bestimmung des MIPI in der klinischen Routine wird gemäß den einschlägigen klinischen Leitlinien national durch die Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Medizinische Onkologie, DGHO (Dreyling, Buske, Drach et al. 2016), und international (ESMO Clinical Practice Guidelines (Dreyling, Thieblemont, Gallamini et al. 2013, Dreyling, Geisler, Hermine et al. 2014)) empfohlen.

Der Proliferationsmarker Ki-67-Index

Nach der Anerkennung des Mantelzell-Lymphoms als eigenständige Lymphomentität hatte sich schon früh gezeigt, dass Unterschiede im Krankheitsverlauf durch biologische Eigenschaften des Lymphoms erklärt werden können (Übersicht in (Hoster, Dreyling, Klapper et al. 2008), Tabelle 8). Bei fast allen Patienten mit Mantelzell-Lymphom zeichnen sich die Tumorzellen genetisch durch die charakteristische Translokation $t(11;14)(q13;q32)$ aus, die das Cyclin D1-Gen unter die Expressionskontrolle des Immunglobulin-Schwerketten-Gens (*IGH*) bringt (Swerdlow, Campo, Harris et al. 2008). Die Translokation $t(11;14)(q13;q32)$ führt zur Überexpression des Proteins Cyclin D1, das im Zellzyklus den Übergang von der G1-Phase in die S-Phase anregt. Die Überexpression von Cyclin D1 wird als eine Ursache für die verstärkte Proliferation der Tumorzellen beim Mantelzell-Lymphom angesehen.

In mehreren Studien war beobachtet worden, dass bei Patienten mit Mantelzell-Lymphom ein höherer Anteil proliferierender Tumorzellen mit einem kürzeren Überleben assoziiert ist (Übersicht in (Hoster, Dreyling, Klapper et al. 2008)). Der Anteil proliferierender Tumorzellen kann als Ki-67-Index an Schnitten von in Paraffin eingebetteten, formalin-fixierten Lymphomgewebeproben aus der Routinediagnostik des Mantelzell-Lymphoms quantitativ bestimmt werden. Ki-67 ist ein Antikörper gegen ein nukleäres Protein, das nur in sich teilenden, nicht aber in ruhenden Zellen vorhanden ist

(Gerdes, Schwab, Lemke et al. 1983). Mit Ki-67 und anderen Antikörpern gegen das Ki-67-Antigen können sich teilende Tumorzellen durch immunhistochemische Färbung markiert deren Anteil an allen Tumorzellen als Ki-67-Index quantifiziert werden.

Parallel zur Entwicklung des klinischen prognostischen Index MIPI hatte ich die prognostische Bedeutung des Ki-67-Index beim Mantelzell-Lymphom (Hoster, Dreyling, Klapper et al. 2008) mit den Daten der Patienten aus den randomisierten Studien GLSG1996 (Nickenig, Dreyling, Hoster et al. 2006) und GLSG2000 (Lenz, Dreyling, Hoster et al. 2005) untersucht. Es hatte sich gezeigt, dass ein um 10 Prozentpunkte höherer Ki-67-Index mit einer Erhöhung des Sterberisikos um 29% (Hazard Ratio 1.29) verbunden war. Die prognostische Bedeutung des Ki-67-Index erwies sich als unabhängig und additiv zur prognostischen Bedeutung des MIPI. Parallel zur Validierung des MIPI an der Patientenkohorte der MCL Younger und MCL Elderly-Studien des European MCL Network konnten wir auch die von den klinischen Prognosefaktoren unabhängige prognostische Relevanz des Ki-67-Index an unabhängigen Daten bestätigen (Hoster, Klapper, Hermine et al. 2014).

4) Determann O, Hoster E, Ott G, Wolfram Bernd H, Loddenkemper C, Hansmann M-L, Barth TE, Unterhalt M, Hiddemann W, Dreyling M, Klapper W (2008). "Ki-67 predicts outcome in advanced-stage mantle cell lymphoma patients treated with anti-CD20 immunochemotherapy: results from randomized trials of the European MCL Network and the German Low Grade Lymphoma Study Group." *Blood* 111(4): 2385-2387. (Determann, Hoster, Ott et al. 2008)

Nachdem ich mit den Daten der Studien GLSG1996 und GLSG2000 gezeigt hatte, dass der Ki-67-Index einen starken von klinischen Variablen unabhängigen Prognosefaktor darstellt (Hoster, Dreyling, Klapper et al. 2008), stellten wir uns die Frage, ob sich diese prognostische Bedeutung auch innerhalb der Patientengruppe darstellt, die mit Rituximab behandelt wurde, einem Antikörper gegen den B-Zell-Marker CD20, der in Kombination mit der Chemotherapie CHOP eine deutliche Verbesserung der Krankheitskontrolle gezeigt hatte (Lenz, Dreyling, Hoster et al. 2005). Außerdem bestand von Seiten der Hämatopathologen der Wunsch, für den Ki-67-Index prognostisch relevante Grenzwerte zu definieren. Auf der Basis der Daten der Studien GLSG1996 und GLSG2000 bestimmte ich die beiden für das Gesamtüberleben prognostischen Grenzwerte 10% und 30% für den Ki-67-Index, welche auch in der relativ kleinen Gruppe der Patienten, die mit Rituximab behandelt worden waren, tendenziell unterschiedliche Überlebenszeiten definierten. Eine unabhängige Validierung dieser Ergebnisse hatte ich mit den Daten der damals noch rekrutierenden Studien MCL Younger und MCL Elderly des European MCL Network geplant.

5) Klapper W, Hoster E, Determann O, Oschlies I, van der Laak J, Berger F, Bernd HW, Cabecadas J, Campo E, Cogliatti S, Hansmann ML, Kluin PM, Kodet R, Krivolapov YA, Loddenkemper C, Stein H, Möller P, Barth TE, Müller-Hermelink K, Rosenwald A, Ott G, Pileri S, Ralfkiaer E, Rymkiewicz G, van Krieken JH, Wacker HH, Unterhalt M, Hiddemann W, Dreyling M(2009). "Ki-67 as a prognostic marker in mantle cell lymphoma-consensus guidelines of the pathology panel of the European MCL Network." J Hematop 2(2): 103-111. (Klapper, Hoster, Determann et al. 2009)

Nachdem sich die starke prognostische Bedeutung des Proliferationsmarker Ki-67-Index beim Mantelzell-Lymphom erwiesen hatte, verfolgte das Pathologen-Panel innerhalb des European MCL Network das Ziel, Voraussetzungen für eine möglichst reproduzierbare Bestimmung des Ki-67-Index in der klinischen Routine zu schaffen. In anderen Studien hatte sich gezeigt, dass die quantitative Bestimmung immunhistochemischer Marker deutlichen inter-individuellen Schwankungen zwischen verschiedenen Beurteilern unterliegen kann (de Jong, Rosenwald, Chhanabhai et al. 2007). In unserer Studie schätzten 11 erfahrene Hämatopathologen den Ki-67-Index auf 29 diagnostischen Lymphknotenproben von Patienten mit fortgeschrittenem Mantelzell-Lymphom. Außerdem wurden zwei verschiedene computergestützte Bestimmungen des Ki-67-Index angewendet. Goldstandard war die Zählung Ki-67-positiver Zellen unter jeweils 500 Tumorzellen auf zwei repräsentativen Lymphomarealen durch einen erfahrenen Hämatopathologen, wie sie bereits in den Vorgängerstudien des European MCL Network angewendet worden war (Determann, Hoster, Ott et al. 2008, Hoster, Dreyling, Klapper et al. 2008). Darüber hinaus zählten vier Hämatopathologen an 10 diagnostischen Lymphknotenproben in jeweils 5 Arealen die Ki-67-positiven Zellen unter jeweils 100 Tumorzellen aus. Sowohl die Expertenschätzung als auch die computergestützte Bestimmung des Ki-67-Index wiesen eine schlechte Übereinstimmung mit dem Goldstandard auf. Die Zählung Ki-67-positiver Zellen dagegen zeigte eine gute Konkordanz zum Goldstandard, wobei die Zählung von je 100 Zellen in zwei verschiedenen Arealen einen guten Kompromiss zwischen Aufwand und Konkordanz darstellt und für die routinemäßige Bestimmung empfohlen wird. Die Arbeit enthält auch Empfehlungen der Hämatopathologen für die Auswahl der Areale für die Zählung der Ki-67-positiven Zellen.

6) ***Hoster E, Rosenwald A, Berger F, Bernd HW, Hartmann S, Loddenkemper C, Barth TF, Brousse N, Pileri S, Rymkiewicz G, Kodet R, Stilgenbauer S, Forstpointner R, Thieblemont C, Hallek M, Coiffier B, Vehling-Kaiser U, Bouabdallah R, Kanz L, Pfreundschuh M, Schmidt C, Ribrag V, Hiddemann W, Unterhalt M, Kluin-Nelemans JC, Hermine O, Dreyling MH, Klapper W (2016). "Prognostic Value of Ki-67 Index, Cytology, and Growth Pattern in Mantle-Cell Lymphoma: Results From Randomized Trials of the European Mantle Cell Lymphoma Network." J Clin Oncol 34(12): 1386-1394. (Hoster, Rosenwald, Berger et al. 2016)***

Nachdem die starke prognostische Relevanz des Ki-67-Index beim Mantelzell-Lymphom etabliert war und mit den Guidelines eine standardisierte Bestimmung des Ki-67-Index möglich war, stellte ich die folgenden weiteren Fragen:

- Lassen sich die definierten Grenzwerte für den Ki-67-Index (10% und 30%) unter den heute empfohlenen Therapien als prognostisch relevant bestätigen?
- Welche prognostische Bedeutung haben weitere Tumorcharakteristika wie die Morphologie der Tumorzellen (Zytologie) und das Wachstumsmuster im Tumorgewebe im Vergleich zum Ki-67-Index?
- Wie können die routinemäßig verfügbaren biologischen und klinischen Prognosefaktoren zu einem möglichst guten Prognosemodell kombiniert werden?

Diese Fragen untersuchte ich anhand der Daten der Patientenkohorte aus den beiden randomisierten Studien MCL Younger und MCL Elderly des European MCL Network. Hierfür waren im Rahmen des European MCL Pathology Panel bei gut 500 Studienpatienten die Zytologie, das Wachstumsmuster, sowie der Ki-67-Index gemäß den veröffentlichten Guidelines bestimmt worden.

Bei meiner Überprüfung der Grenzwerte für den Ki-67-Index zeigte sich, dass der 10%-Grenzwert keine eigenständige Prognosegruppe im Hinblick auf das Gesamtüberleben und das progressionsfreie Überleben definierte. Patienten mit einem Ki-67-Index von mindestens 30% hatten dagegen eine klar schlechtere Prognose sowohl in Bezug auf das Gesamtüberleben als auch auf das progressionsfreie Überleben im Vergleich zu jenen Patienten mit einem niedrigeren Ki-67-Index unter 30%. Somit konnte ich den 30%-Grenzwert als prognostisch relevant für den Ki-67-Index bei Erstdiagnose des Mantelzell-Lymphoms bestätigen, den 10%-Grenzwert hingegen nicht.

Nach der Morphologie der Tumorzellen (Zytologie) werden mehrere Varianten des Mantelzell-Lymphoms unterschieden, von denen die seltenere blastische Variante in einigen Studien als prognostisch besonders ungünstig für das Überleben berichtet worden war. Auch in dem Datensatz der European MCL Younger und Elderly-Studien zeigte sich für die blastoide Variante des Mantelzell-Lymphoms, bei der das Tumorgewebe einen Anteil pleomorpher oder blastischer Tumorzellen enthält, ein schlechterer Krankheitsverlauf als für die klassische Variante. Der größte Teil des prognostischen Effekts der Zytologie des Mantelzell-Lymphoms konnte jedoch durch den Ki-67-Index erklärt werden, der bei der blastoiden Variante des Mantelzell-Lymphoms im Median deutlich höher liegt als bei der

klassischen. Die drei verschiedenen Formen des Wachstumsmusters beim Mantelzell-Lymphom (diffuses, noduläres, oder Mantelzonenwachstum) zeigten keine Assoziation mit der Prognose. Von den untersuchten Charakteristika MIPI, Ki-67-Index, Zytologie und Wachstumsmuster erwiesen sich in verschiedenen Prognosemodellen übereinstimmend MIPI und Ki-67-Index als die unabhängigen Prognosefaktoren sowohl für das Gesamtüberleben als auch für das progressionsfreie Überleben.

Mit dem biologischen MIPI (MIPI-b) hatte ich 2008 auch einen ersten kombinierten klinisch-biologischen prognostischen Index beim Mantelzell-Lymphom entwickelt, der auf Basis von MIPI und dem Ki-67-Index drei prognostische Gruppen definiert (Hoster, Dreyling, Klapper et al. 2008). Bei der externen Validierung durch uns und durch andere Gruppen zeigte sich, dass der MIPI-b in aktuellen Patientenkohorten zwar eine klare Hochrisikogruppe bestimmte, die Gruppen niedriger und mittlerer Prognose jedoch in Bezug auf das Gesamtüberleben nicht unterschiedlich verliefen (Hoster, Klapper, Hermine et al. 2014). Somit schien der MIPI-b die starken unabhängigen Prognosefaktoren Ki-67-Index und MIPI nicht bestmöglich zu kombinieren. Mit einer neuartigen und vereinfachten Kombination des MIPI mit dem Ki-67-Index (combined MIPI, MIPI-c), die den validierten Grenzwert 30% für den Ki-67-Index verwendet, konnte ich nun sowohl mit den Daten der Vorläuferstudien GLSG1996/2000 als auch mit den Daten der aktuellen Studien MCL Younger und MCL Elderly eine Auftrennung in vier prognostische Gruppen zeigen. In den Daten der Studien des European MCL Network lagen die geschätzten 5-Jahres Überlebensraten in Abhängigkeit von der Prognosegruppe nach MIPI-c bei 85%, 72%, 43% und 17%, und das mediane progressionsfreie Überleben bei 7.4, 4.4, 2.0 und 1.0 Jahren. Der MIPI-c ermöglichte somit eine feinere Auftrennung in Prognosegruppen als MIPI und MIPI-b.

Auch auf Basis unserer Daten wird die Bestimmung des Ki-67-Index in der klinischen Routine in den einschlägigen nationalen und internationalen Leitlinien der DGHO (Dreyling, Buske, Drach et al. 2016), ESMO (Dreyling, Thieblemont, Gallamini et al. 2013, Dreyling, Geisler, Hermine et al. 2014) und NCCN (National Comprehensive Cancer Network Non-Hodgkin's Lymphomas 2016) empfohlen. Mit dem MIPI-c besteht nun die Möglichkeit, die Prognose von Patienten mit neu diagnostiziertem Mantelzell-Lymphom anhand von in der klinischen Routine verfügbaren Informationen besser abzuschätzen. Gegenwärtig werden die Ergebnisse unserer Prognosestudien noch nicht für die Therapiesteuerung eingesetzt; die Erforschung solcher neuartiger risikoadaptierten Therapieverfahren wird durch diese Ergebnisse ermöglicht. Darüber hinaus bieten die Ergebnisse eine Benchmark für die Etablierung neuer biologischer Prognosefaktoren.

Die Lebenserwartung von Patienten mit Mantelzell-Lymphom hat sich zwar in den letzten Jahrzehnten deutlich verbessert (Herrmann, Hoster, Zwingers et al. 2009), wie auch die Ergebnisse der beiden randomisierten Studien MCL Younger (Hermine, Hoster, Walewski et al. 2016) und MCL Elderly (Kluin-Nelemans, Hoster, Hermine et al. 2012) zeigen. Dennoch gibt es auch unter den aktuellen Therapien große Unterschiede im individuellen Krankheitsverlauf, die teilweise mit bekannten Prognosefaktoren, seien es klinische Faktoren, wie sie im MIPI zusammengefasst sind, oder dem

biologischen Ki-67-Index erklärt werden können. Diese Ergebnisse zeigen deutlich die Notwendigkeit für weitere Verbesserungen der Therapie des Mantelzell-Lymphoms durch neuartige Strategien, da bei einer vollständigen Krankheitskontrolle oder Heilung des Lymphoms eine klare Verminderung oder Aufhebung der Relevanz von Prognosefaktoren zu erwarten ist.

Methodische Aspekte

Bei vielen der von mir beim Mantelzell-Lymphom untersuchten Prognosefaktoren handelt es sich um kontinuierliche Messwerte, wie z.B. bei Ki-67-Index, Alter, Leukozytenzahl und LDH-Serumaktivität. Bei der Untersuchung von Prognosefaktoren in der klinischen Forschung werden kontinuierliche Messgrößen häufig kategorisiert. Die etablierten prognostischen Indizes beim diffusen großzelligen Lymphom, der International Prognostic Index (IPI, (The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project 1993)) und beim follikulären Lymphom, der Follicular Lymphoma International Prognostic Index (FLIPI, (Solal-Celigny, Roy, Colombat et al. 2004)) beispielsweise, verwenden alle Prognosefaktoren als binäre Größen, auch kontinuierliche Werte wie z. B. das Alter. Sowohl beim IPI als auch beim FLIPI wurden die relevanten Prognosefaktoren mittels Variablenselektion in den verschiedenen multiplen Cox-Regressionsmodellen ausgewählt.

Die Verwendung kategorisierter kontinuierlicher Größen in Regressionsmodellen wird von methodischer Seite aus einer Reihe von Gründen kritisch gesehen (Royston, Altman and Sauerbrei 2006). Zunächst einmal stellt die Einteilung numerischer Werte in wenige Kategorien einen erheblichen Informationsverlust dar; die Variabilität der Werte innerhalb der Kategorien wird damit ignoriert. Der Informationsverlust führt direkt zu einer Reduktion der statistischen Power, relevante prognostische Effekte zu beobachten (Lagakos 1988, Royston, Altman and Sauerbrei 2006). Bei der Untersuchung der Assoziation zwischen zwei normalverteilten Größen mit mäßiger Korrelation (Pearsonscher Korrelationskoeffizient zwischen 0.3 und 0.5) beispielsweise hat J. Cohen berechnet, dass eine Dichotomisierung der einen Größe am Mittelwert einem Verlust an statistischer Power entspricht, wie ihn das Weglassen von ungefähr einem Drittel der Daten (38%) darstellt (Cohen 1983).

Ein Ziel multivariabler Regressionsmodelle besteht darin, den prognostischen Effekt einer interessierenden Größe für den gleichzeitigen Beitrag anderer korrelierter Prognosefaktoren (Confounder) zu adjustieren. Wenn ein kontinuierlicher Confounder kategorisiert in ein Regressionsmodell eingeht, wird die Schätzung des eigentlich interessierenden prognostischen Effekts nicht ohne Fehler (Bias) bleiben; man spricht von „Residual Confounding“ (Becher 1992). Darüber hinaus kann es zu einer Inflation des Fehlers 1. Art bei der Untersuchung des prognostischen Effekts einer Variablen kommen, wenn ein kontinuierlicher Confounder kategorisiert in ein Regressionsmodell eingebracht wird (Austin and Brunner 2004).

Ein Argument, das manchmal bei Regressionsmodellen als Begründung für die Dichotomisierung von Einflussgrößen herangezogen wird, zielt darauf ab, dass mit einer binären Einflussgröße wenige Annahmen im Hinblick auf die funktionale Form des Zusammenhangs mit der Prognosevariablen

gelten müssen. Mehrere Autoren schreiben jedoch, dass unpassende Annahmen hinsichtlich der funktionalen Form des Zusammenhangs, wie zum Beispiel Abweichungen von der Annahme eines linearen Zusammenhangs mit dem Risiko, wenn kontinuierliche Variablen linear in ein Regressionsmodell eingebracht werden, weniger Nachteile bringen als die Kategorisierung (Becher 1992, Brenner and Blettner 1997). Methodiker empfehlen daher, kontinuierliche Variable in multivariablen Regressionsmodellen nicht zu kategorisieren.

Im Gegensatz zu IPI und FLIPI bin ich dieser Empfehlung bei der Etablierung des MIPI gefolgt und habe alle kontinuierlichen Variablen als solche, teilweise nach logarithmischer Transformation, in die Regressionsmodelle eingebracht (Hoster, Dreyling, Klapper et al. 2008). Das Ergebnis war ein kontinuierlicher prognostischer Score (MIPI-Score), für den ich erst in einem letzten Schritt Grenzwerte zur Definition von Prognosegruppen festlegte (MIPI). Der kontinuierliche MIPI-Score kann zur Adjustierung von prognostischen Effekten verwendet werden und vermeidet hierbei das Residual Confounding, das sich dadurch ergeben würde, wenn der MIPI als kategoriale Größe zur Adjustierung verwendet würde.

Die prognostische Relevanz des Ki-67-Index beim Mantelzell-Lymphom habe ich für die kontinuierlichen Prozentwerte, sowohl ohne als auch mit Adjustierung für den kontinuierlichen MIPI-Score, etabliert (Hoster, Dreyling, Klapper et al. 2008) und validiert (Hoster, Klapper, Hermine et al. 2014). Die Hämatopathologen, die den Ki-67-Index an den Lymphombiopsien bestimmt hatten, waren jedoch auch an prognostisch relevanten Grenzwerten für diesen Proliferationsmarker interessiert. Zu diesem Zeitpunkt waren bei der Untersuchung der prognostischen Bedeutung des Ki-67-Index für das Gesamtüberleben beim Mantelzell-Lymphom in fünf verschiedenen Publikationen völlig unterschiedliche Grenzwerte verwendet worden: die drei Grenzwerte 10%, 50%, 80% in (Velders, Kluin-Nelemans, De Boer et al. 1996), das obere Terzil 26% in (Raty, Franssila, Joensuu et al. 2002), einerseits der Grenzwert 20% und andererseits die beiden Grenzwerte 10% und 50% in (Andersen, Jensen, de Nully Brown et al. 2002), der Grenzwert 10% in (Schrader, Meusers, Brittinger et al. 2004), sowie einerseits die Grenzwerte 10% und 40% und andererseits die drei Quartile 7%, 15% und 20% in (Tiemann, Schrader, Klapper et al. 2005). Die Verwendung verschiedener Grenzwerte in unterschiedlichen Studien beeinträchtigt die Vergleichbarkeit der Ergebnisse; etablierte Grenzwerte können hier Abhilfe schaffen.

Bei der datengestützten Etablierung prognostisch relevanter Grenzwerte kontinuierlicher Größen sind einige methodische Schwierigkeiten zu berücksichtigen. Die Wahl der Grenzwerte sollte sich möglichst an biologischen Eigenschaften oder der Messtechnik für die kontinuierliche Größe orientieren (Altman, Lausen, Sauerbrei et al. 1994). So können sich z.B. aus der Verteilung der Werte im Patientenkollektiv natürliche Grenzwerte ergeben. Eine Einteilung nach dem Anteil der Patienten pro Gruppe, wie zum Beispiel mit dem Median, mit Terzilen oder Quartilen wird in der Regel ohne Bezug zur natürlichen Verteilung der Größe oder zum Zusammenhang mit der Prognosevariablen sein. Außerdem werden diese Werte von Datensatz zu Datensatz völlig unterschiedlich sein.

Eine weit verbreitete Methode ist die sog. „minimum-*P*-value“-Methode, bei der Grenzwerte gewählt werden, welche im Datensatz die größte statistische Signifikanz der kategorisierten Einflussgröße in Bezug zur Prognosevariablen aufweisen. Diese Methode orientiert sich zwar am Zusammenhang zur Prognosevariablen, weist aber einige gewichtige Fallstricke auf, die zu fehlerhaften Schlüssen führen können. Das größte Problem besteht in der mit der Anzahl der untersuchten Grenzwerte steigenden Wahrscheinlichkeit, allein auf Grund multiplen Signifikanztestens eine prognostische Relevanz für die kontinuierliche Größe zu behaupten, auch wenn sie unter Umständen gar nicht gegeben ist. Für einen Proliferationsmarker beim Brustkrebs stellten Altman et al. fest, dass die zahlreichen publizierten Einzelergebnisse mit verschiedenen Grenzwerten sowie eigene Untersuchungen eher dafür sprächen, dass gar keine prognostische Relevanz vorlag (Altman, Lausen, Sauerbrei et al. 1994). Ohne Korrektur für multiples Testen ist diese Methode zur Untersuchung der prognostischen Relevanz einer kontinuierlichen Größe ungeeignet. Ein weiteres Problem besteht darin, dass durch eine besonders gute Anpassung an den zur Grenzwertbestimmung verwendeten Datensatz Schätzer für den prognostischen Effekt an diesem Datensatz überoptimistisch sein werden.

Bei der Kategorisierung des Ki-67-Index habe ich darauf geachtet, die methodischen Schwierigkeiten möglichst zu umgehen. Die Bestimmung der Grenzwerte diene nicht dem Ziel, die prognostische Relevanz des Ki-67-Index zu untersuchen. Die starke unabhängige prognostische Relevanz von klinischen Variablen hatte ich vorab für den Ki-67-Index als kontinuierliche Variable gezeigt. Unser Ziel lag darin, einheitliche Grenzwerte zu etablieren, die in zukünftigen Studien verwendet werden sollten, falls eine Kategorisierung unbedingt gewünscht wäre. Als Methode zur Grenzwertauswahl verwendete ich die „minimum-*P*-value-Methode“, da sie den Zusammenhang zwischen dem Ki-67-Index und dem Gesamtüberleben berücksichtigt, und da ich von methodischer Seite keine eindeutig bessere sah. Aufgrund der Verteilung der Werte des Ki-67-Index hatten sich keine natürlichen Grenzwerte ergeben. Um die Überanpassung der Grenzwerte an unseren Datensatz zu verringern, betrachtete ich von vornherein nur eine kleine Anzahl von Grenzwerten (6 Paare aus den Werten 10%, 20%, 30% und 40%), die entstehenden Prognosegruppen sollten nicht extrem klein oder groß sein, und ich verwendete mit 249 Patienten und 87 Events den größtmöglichen Datensatz. Die Risiken des multiplen Testens waren vernachlässigbar, da die prognostische Relevanz des Ki-67-Index bereits vor Grenzwertsuche feststand und ich nur 6 Hypothesentest durchführte, die auch nach konservativer Bonferroni-Korrektur zu sehr kleinen *p*-Werten geführt hätten. Zur Untersuchung der Verallgemeinerbarkeit der Grenzwerte plante ich eine Validierung der Grenzwerte auf den damals noch rekrutierenden Studien des European MCL Network.

Bei der Validierung der Grenzwerte für den Ki-67-Index auf diesen Daten von Patienten der European MCL Younger- und Elderly-Studie, die mit Immunchemotherapie und entweder autologer Stammzell-Transplantation oder Erhaltungstherapie behandelt worden waren, stellte sich heraus, dass bei niedrigen Werten des Ki-67-Index unter 30% der quantitative Wert nicht mit dem Gesamtüberleben assoziiert war (Hoster, Rosenwald, Berger et al. 2016). Dies zeigte sich sowohl bei der Kaplan-Meier-

Analyse mit den Grenzwerten 10%, 20% und 30%, also auch bei der Inspektion der Martingal-Residuen. Erst bei Werten über 30% zeigte sich ein möglicherweise linearer Zusammenhang. Dementsprechend konnte der Grenzwert 10% nicht als prognostisch relevant bestätigt werden, und eine Dichotomisierung am Grenzwert 30% erschien als erste Näherung an eine passende funktionale Form geeignet. Diese Validierung mit den Daten von 508 Patienten und 184 Events stellt die bislang größte Kohorte hierfür dar. Der Grenzwert 30% wurde auch in der zweitgrößten Validierung mit 210 Patienten und 137 Events aus einer bevölkerungsbezogenen Kohorte als prognostisch relevant bestätigt (Salek, Vesela, Boudova et al. 2014).

Auch wenn auf Basis dieser Daten der Ki-67-Index mit dem Grenzwert 30% z.B. in der klinischen NCCN-Guideline als prognostisch relevant erwähnt wird (National Comprehensive Cancer Network Non-Hodgkin's Lymphomas 2016) und zur Risikostratifizierung in zukünftigen klinischen Studien empfohlen wird (Spurgeon, Till, Martin et al. 2017), ist die Berücksichtigung des Ki-67-Index als kontinuierliche Größe zur Adjustierung von Therapie- oder anderen Effekten wegen der oben genannten Gründe klar vorzuziehen. Diesem Prinzip bin ich bei der ersten Kombination der klinischen Prognosefaktoren mit dem Ki-67-Index gefolgt, indem ich einen kombinierten kontinuierlichen Score (MIPI-b) aus der mit den Regressionskoeffizienten gewichteten Summe aus kontinuierlichem MIPI-Score und Ki-67-Index in % bildete und hierfür geeignete Grenzwerte identifizierte (Hoster, Dreyling, Klapper et al. 2008). Bei der Validierung des MIPI-b durch uns und andere stellte sich jedoch heraus, dass die beiden Gruppen bester und mittlerer Prognose keine klar unterschiedlichen Krankheitsverläufe aufwiesen (Hoster, Klapper, Hermine et al. 2014). Ein Grund hierfür könnte die fehlende prognostische Relevanz der niedrigen Ki-67-Werte sein. Die Kombination der MIPI-Gruppen mit dem dichotomisierten Ki-67-Index am validierten Grenzwert 30% (MIPI-c) erlaubte hierbei eine deutlich bessere Auftrennung in vier Prognosegruppen (Hoster, Rosenwald, Berger et al. 2016). Somit erwies sich in diesem Fall ausnahmsweise die Berücksichtigung des Ki-67-Index als kategoriale Größen für ein prognostisches Klassifikationssystem als besser.

Zur Adjustierung prognostischer Effekte können und sollten aber weiterhin MIPI-Score und Ki-67-Index als kontinuierliche Größen verwendet werden. An dieses Prinzip habe ich mich in meinen weiteren Analysen gehalten, bei denen ich den MIPI zur Adjustierung verwendete, wie beispielsweise bei der Untersuchung der prognostischen Relevanz der weiteren biologischen Faktoren Proliferation, Zytologie und Wachstumsmuster (Hoster, Rosenwald, Berger et al. 2016) oder der genetischen Copy-Number-Alterationen (Delfau-Larue, Klapper, Berger et al. 2015) beim Mantelzell-Lymphom. Die Möglichkeit, prognostische Effekte mit dem kontinuierlichen MIPI-Score und dem kontinuierlichen Ki-67-Index zu adjustieren, wurde kürzlich auch von anderen genutzt, z. B. bei der Etablierung eines neuen, auf Genexpression basierten Proliferationsmarkers (Scott, Abrisqueta, Wright et al. 2017) oder bei der Untersuchung der prognostischen Relevanz der Tumormikrogefäßdichte (Vesela, Tonar, Salek et al. 2014) beim Mantelzell-Lymphom.

Genetische Copy-Number-Alterationen

7) Delfau-Larue MH, Klapper W, Berger F, Jardin F, Briere J, Salles G, Casasnovas O, Feugier P, Haioun C, Ribrag V, Thieblemont C, Unterhalt M, Dreyling M, Macintyre E, Pott C, Hermine O, Hoster E (2015). "High-dose cytarabine does not overcome the adverse prognostic value of *CDKN2A* and *TP53* deletions in mantle cell lymphoma." *Blood* 126(5): 604-611. (Delfau-Larue, Klapper, Berger et al. 2015)

Neben der für das Mantelzell-Lymphom charakteristischen Translokation t(11;14)(q13;q32) sind weitere genetische Veränderungen bei den Mantelzell-Lymphomzellen häufig, von denen sich einige auch als prognostisch relevant erwiesen hatten. Bisherige Untersuchungen genetischer Copy-Number-Alterationen wie Genamplifikationen und Gendeletionen hatten auf kleineren und heterogen behandelten Patientenkohorten beruht. Ziel unserer Arbeit im Rahmen des European MCL Network war zu überprüfen, ob sich die prognostische Bedeutung bekannter genetischer Copy-Number-Alterationen auch in der Kohorte der MCL Younger-Studie nachweisen lässt, bei der eine relativ einheitliche Behandlung mit Immunchemotherapie ohne oder mit Hochdosis-Cytarabin vor autologer Stammzelltransplantation erfolgte.

Wie erwartet zeigten sich in der Untersuchung von 135 Patienten mit Mantelzell-Lymphom häufig Amplifikationen im *MYC*-Gen (18% der Patienten) sowie Deletionen in den Genen *RBI* (26%), *ATM* (25%), *CDKN2A* (25%), und *TP53* (22%). Mit und ohne Adjustierung für die bekannten klinischen Prognosefaktoren im MIPI-Score waren Deletionen in *RBI*, *CDKN2A*, *TP53*, und *CDKN1B* mit einer kürzeren Überlebenszeit verbunden, während für Copy-Number-Alterationen in *MYC*, *ATM*, *CDK2*, *CDK4* und *MDM2* kein Zusammenhang mit dem Überleben gezeigt werden konnte. In multivariablen Modellen konnte ich Deletionen in *CDKN2A* und *TP53* als additive prognostisch ungünstige Faktoren identifizieren, die auch nach Adjustierung für MIPI-Score und Ki-67-Index und auch innerhalb der beiden Therapiegruppen der Studie bestehen blieben. Somit zeigte sich, dass bislang auch die aktuell hocheffektive Therapie mit Immunchemotherapie, Hochdosis-Cytarabin, und autologer Stammzelltransplantation, die im experimentellen Arm der MCL Younger-Studie angewendet wurde, die prognostische Bedeutung bekannter Gendeletionen nicht ausgleichen können.

Minimal Residual Disease (MRD)

Zusätzlich zu bei Diagnosestellung erhobenen Prognosefaktoren wie MIPI, Ki-67-Index oder genetischen Tumorcharakteristika, könnte eine individuelle Bewertung des Krankheitsverlaufs im Hinblick auf die Tiefe des Therapieansprechens sowie eine möglichst frühe Vorhersage des klinischen Rezidivs eine risikoadaptierte Therapiesteuerung ermöglichen. Mit der real-time quantitativen PCR (RQ-PCR) steht für verschiedene Lymphome und Leukämien eine sehr sensitive und spezifische Methode zur Verfügung, um während und nach Therapie noch vorhandene oder im weiteren Krankheitsverlauf neu auftretende Tumorzellen (minimale Resterkrankung, minimal residual disease, MRD) im Blut oder Knochenmark quantitativ zu erfassen (Pott, Schrader, Gesk et al. 2006). Beim

Mantelzell-Lymphom ist eine Beobachtung der MRD besonders gut durchführbar, da bei fast allen Patienten bei Diagnose die Tumorzellen ins Blut oder Knochenmark ausschwemmen, so dass bei den meisten Patienten ein spezifischer Marker für die Erkennung der Tumorzellen gewonnen werden kann. Die charakteristische Translokation t(11;14)(q13;q32) stellt hierfür einen besonders geeigneten Marker dar; sie ist jedoch nur bei etwa einem Drittel der Patienten mit PCR nachweisbar. Da es sich bei den Tumorzellen um Zellen der B-Lymphozytenreihe handelt, kann aber bei den meisten Patienten mit Mantelzell-Lymphom auf Basis des Immunglobulin-Schwerkettengen (*IGH*)-Rearrangements ein tumor- und patientenspezifischer Marker für MRD-Analysen generiert werden (Hoster and Pott 2016).

8) Pott C, Hoster E, Delfau-Larue MH, Beldjord K, Böttcher S, Asnafi V, Plonquet A, Siebert R, Callet-Bauchu E, Andersen N, van Dongen JJ, Klapper W, Berger F, Ribrag V, van Hoof AL, Trneny M, Walewski J, Dreger P, Unterhalt M, Hiddemann W, Kneba M, Kluin-Nelemans HC, Hermine O, Macintyre E, Dreyling M (2010). "Molecular remission is an independent predictor of clinical outcome in patients with mantle cell lymphoma after combined immunochemotherapy: a European MCL intergroup study." *Blood* 115(16): 3215-3223. (Pott, Hoster, Delfau-Larue et al. 2010)

Im Rahmen der beiden Studien MCL Younger und MCL Elderly des European MCL Network wurde die MRD in einem wissenschaftlichen Begleitprogramm systematisch analysiert. Die Ziele des MRD-Begleitprojekts waren zu untersuchen, ob sich das MRD-Monitoring im Rahmen einer multizentrischen Studien durchführen lässt, und zu erforschen inwiefern sich die Effektivität verschiedener Therapien auch in der Reduktion der Tumorlast zeigt und ob die MRD-Bestimmung zur Vorhersage des klinischen Rezidivs geeignet ist.

In einer vorausgehenden Untersuchung war nach einer Therapie mit CHOP ohne CD20-Antikörper in einer kleinen Gruppe von Patienten keine nennenswerte Reduktion der Tumorlast in Blut oder Knochenmark beobachtet worden (Pott, Schrader, Gesk et al. 2006). Die Ergebnisse unserer Arbeit zeigten, dass nach Immunchemotherapie bei 56% von 190 Patienten keine MRD in Blut oder Knochenmark nachweisbar war und unterstützten damit das klinische Ergebnis einer höheren Remissionsrate durch Immunchemotherapie im Vergleich zur Chemotherapie (Lenz, Dreyling, Hoster et al. 2005). Die Hochdosis-Konsolidierung mit autologer Stammzelltransplantation erhöhte den Anteil der Patienten ohne MRD weiter auf 72%. Das Erreichen der MRD-Negativität zum Ende der Induktionstherapie war prognostisch relevant für das weitere progressionsfreie Überleben mit einer Risikoreduktion um 60% (Hazard Ratio 0.40); dieser starke prognostische Effekt war unabhängig von klinischen Prognosefaktoren (MIPI) und dem Erreichen einer kompletten klinischen Remission. MRD-Negativität während des ersten Jahres nach Induktion bzw. autologer Stammzelltransplantation war ebenfalls mit einer verlängerten Remissionsdauer assoziiert, und zwar sowohl in der MCL Younger- als auch in der MCL Elderly-Studie.

Mittlerweile konnten wir diese ersten Ergebnisse zur MRD in den Studien MCL Younger und MCL Elderly durch weitere Analysen ergänzen. Im Rahmen der Auswertung der MCL Younger-Studie (Hermine, Hoster, Walewski et al. 2016) konnten wir beobachten, dass sich die höhere Effektivität der Hochdosis-Cytarabin-haltigen Immunchemotherapie auch in deutlichen Unterschieden bezüglich der Anteile von Patienten ohne MRD zeigten: Im Kontrollarm der Studie (R-CHOP) wurde die MRD-Negativitätsrate nach Induktionstherapie im Blut auf 47% der Patienten und im Knochenmark auf 26% der Patienten geschätzt; im Hochdosis-Cytarabin-Arm (R-CHOP/R-DHAP) dagegen lagen diese Raten mit 79% bzw. 61% deutlich höher. Auch in dieser Auswertung zeigte sich die klare prognostische Bedeutung der MRD-Negativität in klinischer Remission nach Immunchemotherapie und autologer Stammzelltransplantation für das weitere progressionsfreie Überleben. In einer weiteren vorläufigen Analyse (Pott, Macintyre, Delfau-Larue et al. 2014) konnten wir zudem zeigen, dass auch im weiteren Verlauf in klinischer Remission nach Therapieende der MRD-Status stark prognostisch für das weitere progressionsfreie Überleben ist. Während der ersten drei Jahre nach Ende der Therapie trat im Median 1-2 Jahre nach dem Auftreten von MRD im Blut ein klinischer Progress auf.

Die Erforschung der prognostischen und prädiktiven Bedeutung der MRD beim Mantelzell-Lymphom liefert einen wichtigen Beitrag, um bei dieser Erkrankung individualisierte Therapiestrategien zu ermöglichen. Anhand des molekularen Ansprechens eines Patienten auf einen einzelnen Therapiebaustein könnten verschiedene weitere Therapieblöcke ausgewählt werden. Die starke prädiktive Bedeutung der MRD-Positivität für das Auftreten eines klinischen Progresses kann eine prä-emptive Therapie zur Verzögerung des Fortschreitens der Erkrankung ermöglichen. Solche MRD-gesteuerten Therapiemodalitäten müssen jedoch in weiteren klinischen Studien geprüft und mit den aktuellen Standardtherapien verglichen werden. Des Weiteren könnte die Integration der MRD-Bestimmung in die klinische Beurteilung der Therapieeffektivität einen spezifischeren klinischen Endpunkt ermöglichen als es die reine bildgebende Diagnostik bietet (Hoster and Pott 2016).

Prognosemodelle beim follikulären Lymphom

Das follikuläre Lymphom ist mit einer jährlichen Neuerkrankungsrate von 5-7 pro 100.000 Einwohner in Westeuropa eines der häufigeren malignen Lymphome (Dreyling, Ghielmini, Marcus et al. 2014). Trotz eines meist über Jahre anhaltenden Therapieansprechens treten in der Regel Rückfälle der Erkrankung auf, so dass das follikuläre Lymphom jedenfalls in den sehr häufigen fortgeschrittenen Stadien bislang als nicht heilbar gilt (Hiddemann, Hoster, Schmidt et al. 2016).

FLIPI unter Immunchemotherapie

9) Buske C,* Hoster E* Dreyling M, Hasford J, Unterhalt M, Hiddemann W (2006). "The Follicular Lymphoma International Prognostic Index (FLIPI) separates high-risk from intermediate- or low-risk patients with advanced-stage follicular lymphoma treated front-line with rituximab and the combination of cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (R-CHOP) with respect to treatment outcome." Blood 108(5): 1504-1508. (Buske, Hoster, Dreyling et al. 2006)

Im Jahr 1993 war mit dem International Prognostic Index (IPI) für aggressive Lymphome der erste prognostische Index bei malignen Lymphomen etabliert worden, der sich aus den diagnostischen Werten klinischer Patientencharakteristika bestimmt (The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project 1993). Während der IPI beim aggressiven Lymphom bis heute im Einsatz ist, wurde 2004 für das follikuläre Lymphom, das nicht zu den aggressiven Lymphomen zählt, ein spezifischer klinischer prognostischer Index, der Follicular Lymphoma International Prognostic Index (FLIPI) entwickelt (Solal-Celigny, Roy, Colombat et al. 2004). Die Daten zur Etablierung des FLIPI waren erhoben worden, bevor der monoklonale Antikörper gegen CD20, Rituximab, zur Verfügung stand, dessen Kombination mit verschiedenen Chemotherapieschemata in mehreren Studien zu deutlich verbesserten Krankheitsverläufen geführt hatte. Wir stellten daher die Frage, ob der FLIPI auch unter Immunchemotherapie weiter eine prognostische Bedeutung hat.

Mit den Daten der Studie GLSG2000 (Hiddemann, Kneba, Dreyling et al. 2005) konnten wir zeigen, dass in der Kohorte von 362 Patienten mit therapiebedürftigem fortgeschrittenem follikulärem Lymphom, die mit R-CHOP behandelt worden waren, die FLIPI-Hochrisikogruppe eine deutlich verkürzte Zeit bis zum Therapieversagen aufwies im Vergleich zur den Gruppen niedrigen und mittleren Risikos. Im Vergleich zur kombinierten Gruppe niedrigen und mittleren Risikos hatte die FLIPI-Hochrisikogruppe ein dreifaches Risiko für Therapieversagen (Hazard Ratio 3.0). Für die beiden Gruppen niedrigen und mittleren Risikos nach FLIPI konnte kein Unterschied hinsichtlich der Zeit bis zum Therapieversagen beobachtet werden; in diesen beiden Gruppen war die Zahl der Events zu klein, um einen relevanten Unterschied entdecken zu können, da die Gruppe niedrigen Risikos aufgrund der Einschlusskriterien (Therapiebedürftigkeit) nur 14 % der Patienten umfasste, und die Zahl der Events aufgrund der guten Prognose gering war. Für eine Untersuchung der prognostischen Relevanz des FLIPI in Bezug auf das Gesamtüberleben unter R-CHOP-Therapie waren noch nicht

genügend Todesfälle beobachtet worden. Zusammenfassend konnten wir in dieser Arbeit bestätigen, dass der FLIPI auch unter Immunchemotherapie eine Hochrisikogruppe identifiziert, und insofern seine prognostische Relevanz behält.

Beim follikulären Lymphom waren bis vor kurzem trotz intensiver biologischer Forschung keine starken zellulären oder molekularen Prognosefaktoren bekannt, die unabhängig von den klinischen Faktoren wie FLIPI und Allgemeinzustand waren. Auf Basis der klinischen Daten der Studie GLSG2000 (Hiddemann, Kneba, Dreyling et al. 2005) konnten wir aktuell durch gezielte Mutationsanalyse des diagnostischen Tumormaterials einen neuen kombinierten klinisch-molekularen prognostischen Index, den m7-FLIPI, etablieren und seine prognostische Bedeutung an einer unabhängigen Kohorte von der British Columbia Cancer Agency validieren (Pastore, Jurinovic, Kridel et al. 2015). Bei der Entwicklung des m7-FLIPI hatte ich die Verantwortung für die statistische Methodik. Von methodischer Seite her war mir besonders wichtig, neben den rein biologischen Mutationen auch die bekannten klinischen Prognosefaktoren FLIPI und ECOG Performance Status zu berücksichtigen und ein möglichst gut verallgemeinerbares Modell zu entwickeln. Daher wählten wir das endgültige Prognosemodell an Hand der bootstrap-korrigierten Hazard-Ratio aus, die für eine Überanpassung an die Daten (Overfitting) adjustiert war, und validierten dieses Modell auf einer unabhängigen Patientenkohorte.

Prognosemodelle bei der akuten myeloischen Leukämie

Die akute myeloische Leukämie (AML) ist eine maligne Erkrankung des blutbildenden Systems, bei der sich genetisch veränderte myeloische Vorläuferzellen unkontrolliert vermehren und nicht ausreifen (Swerdlow, Campo, Harris et al. 2008) und damit die normale Blutbildung im Knochenmark verdrängen (Spiekermann (Hrsg.) 2015). Mit einer jährlichen Inzidenz von 5-8 pro 100.000 Einwohner in Westeuropa (Fey and Buske 2013) ist die AML ähnlich häufig wie das follikuläre Lymphom. Eine AML führt unbehandelt in der Regel innerhalb weniger Wochen zum Tod; durch die Behandlung mit intensiver Chemotherapie kann die AML bei einem Teil der Patienten geheilt werden (Spiekermann (Hrsg.) 2015).

Prognostic Index for Cytogenetically Normal AML (PINA)

10) Pastore F, Dufour A, Benthous T, Metzeler KH, Maharry KS, Schneider S, Ksienzyk B, Mellert G, Zellmeier E, Kakadia PM, Unterhalt M, Feuring-Buske M, Buske C, Braess J, Sauerland MC, Heinecke A, Krug U, Berdel WE, Büchner T, Wörmann B, Hiddemann W, Bohlander SK, Marcucci G, Spiekermann K, Bloomfield CD,* Hoster E* (2014). "Combined molecular and clinical prognostic index for relapse and survival in cytogenetically normal acute myeloid leukemia." *J Clin Oncol* 32(15): 1586-1594. (Pastore, Dufour, Benthous et al. 2014)

Bei der AML stellen zytogenetische Veränderungen der Leukämiezellen einen entscheidenden prognostischen Faktor dar (Byrd, Mrozek, Dodge et al. 2002). Während einige zytogenetische Veränderungen wie die Translokationen t(8;21) und t(16;16) oder die Inversion inv(16) mit einer besseren Prognose und eine AML von komplexem Karyotyp mit einer schlechteren Prognose assoziiert sind, stellen die Patienten mit zytogenetisch normaler AML eine relativ große Gruppe mit intermediärer aber dennoch heterogener Prognose dar.

In den letzten Jahren konnte eine wachsende Zahl von Genmutationen bei den AML-Zellen mit normalem Karyotyp identifiziert werden, die teilweise ebenfalls eine starke prognostische Relevanz aufwiesen (Schlenk, Döhner, Krauter et al. 2008). In vorausgehenden Studien konnten wir mit den Daten der randomisierten Studie AMLCG-99 (Büchner, Berdel, Schoch et al. 2006) der AML Cooperative Group (AMLCG) die prognostische Bedeutung von Mutationen in den Genen *CEBPA* (Dufour, Schneider, Metzeler et al. 2010, Dufour, Schneider, Hoster et al. 2012, Pastore, Kling, Hoster et al. 2014), *NPM1* und *FLT3* (Schneider, Hoster, Unterhalt et al. 2009, Schneider, Hoster, Unterhalt et al. 2012) bei Patienten mit AML von normalem Karyotyp herausarbeiten. Die 2010 veröffentlichte ELN (European LeukemiaNet)-Klassifikation kombinierte die zytogenetische Informationen mit Mutationen in *CEBPA*, *NPM1* und *FLT3* zu einer Einteilung von AML-Patienten in vier prognostische Gruppen, bei der die Patienten mit AML vom normalem Karyotyp in eine der beiden Gruppen „Favorable“ und „Intermediate-I“ eingeteilt werden (Döhner, Estey, Amadori et al. 2010). Das Ziel unserer Arbeit war es, in der klinischen Routine anwendbare prognostische Indizes für das

Gesamtüberleben (PINA_{OS}) und das rezidivfreie Überleben (PINA_{RFS}) bei zytogenetisch normaler AML zu entwickeln, welche die wichtigsten routinemäßig verfügbaren Informationen zu klinischen und biologischen Charakteristika integrieren.

Auf Basis der Daten von 572 Patienten mit AML vom normalen Karyotyp aus der klinischen Studie AMLCG-99 zeigten sich Alter, Allgemeinzustand, Leukozytenzahl und Mutationen in *CEBPA*, *NPM1* und *FLT3* als unabhängige Prognosefaktoren, mit denen drei prognostische Gruppen für das Gesamtüberleben (PINA_{OS}) bzw. das rezidivfreie Überleben (PINA_{RFS}) definiert werden konnten. Beide Indizes trennten die ELN-Gruppen im Hinblick auf den Krankheitsverlauf weiter auf. Die prognostische Bedeutung von PINA_{OS} und PINA_{RFS} bestätigte sich auch in der unabhängigen Validierungskohorte mit Daten aus Studien der amerikanischen Cancer and Leukemia Group B/Alliance.

Bei der Entwicklung der PINA hatte ich die Verantwortung für die statistische Methodik und legte besonderen Wert auf die folgenden methodischen Aspekte. Für die *FLT3*-Mutation war eine prognostische Bedeutung nur innerhalb der Patienten mit *NPM1*-Mutation bekannt. Daher brachten wir im Gegensatz zu anderen Prognosestudien auch den Interaktionsterm zwischen *NPM1*-Mutation und *FLT3*-Mutation in die Prognosemodelle ein. Wir untersuchten nicht ausschließlich die Mutationen sondern auch klinische Variablen, von denen einige eine unabhängige prognostische Relevanz zeigten, die bei rein biologischen Modellen nicht berücksichtigt worden wäre. Die Kandidatenvariablen für Prognosefaktoren wurden möglichst als kontinuierliche Größen in die Regressionsmodelle eingebracht. Wir entwickelten zunächst kontinuierliche Prognosescores aus den unabhängigen Prognosefaktoren. Grenzwerte bestimmten wir erst im letzten Schritt zur Definition von Prognosegruppen, wie es auch von Methodikern empfohlen wird (Royston, Altman and Sauerbrei 2006). Hierfür wendeten wir die „minimum-*P*-value“-Methode ohne das Problem des multiplen Testens an, da die kontinuierlichen Prognosescores, die wir schlussendlich kategorisierten, bereits ihre starke prognostische Bedeutung in der Cox-Regression gezeigt hatten. Wir korrigierten die Schätzer für die Hazard-Ratios benachbarter Prognosegruppen inkl. Konfidenzintervalle mit einem Bootstrap-Verfahren für eine Überanpassung an die zur Modellentwicklung benutzten Daten. Schließlich validierten wir die neuen Prognosemodelle erfolgreich an einem völlig unabhängigen Datensatz einer amerikanischen Studiengruppe.

Wir konnten somit die unseres Wissens nach ersten kombinierten klinisch-molekularen Prognosemodelle bei Patienten mit zytogenetisch normaler AML etablieren. Unsere Ergebnisse zu routinemäßig verfügbaren unabhängigen klinischen und biologischen Prognosefaktoren können als Basis dienen bei der Erforschung weiterer molekularer Marker. Unser Prognosemodell wird in den aktuellen klinischen NCCN-Guidelines für AML (National Comprehensive Cancer Network Acute Myeloid Leukemia 2016) als erstes kombiniertes molekulares Modell beschrieben, was die wachsende Akzeptanz der Verwendung molekularer Informationen zur Vorhersage der Prognose und der Etablierung risiko-adaptierter Therapien anzeigt.

Schlussfolgerungen und Ausblick

Die Ergebnisse der großen randomisierten Studien von GLSG und European MCL Network haben neue Therapiestandards beim follikulären Lymphom und beim Mantelzell-Lymphom gesetzt, die sich auch in den internationalen klinischen Guidelines widerspiegeln. Hieran zeigt sich die Bedeutung randomisierter Studien für die Gewinnung von Evidenz im Hinblick auf optimale Therapiestrategien. Diese großen akademischen Studien haben auch die Prognoseforschung in besonderer Weise befördert. Die Patientenkohorten der Studien zeichnen sich durch eine hohe diagnostische Sicherheit auf Grund referenzpathologischer Begutachtung, durch Vollständigkeit der klinischen Dokumentation, sowie durch eine Homogenität in der Therapie aus, welche das Erkennen prognostischer Effekte klinischer und biologischer Faktoren erleichtert. Aus der intensiven Zusammenarbeit von forschenden Ärzten, Referenzpathologen, hämatologischen Speziallabors und Biostatistikern im Rahmen von GLSG, European MCL Network und AMLCG ergaben sich relevante klinische Fragestellungen, die mit hoher Evidenz beantwortet werden konnten.

Mit MIPI und PINA konnten wir neue krankheitsspezifische Prognosemodelle etablieren, die in der klinischen Routine anwendbar sind. Mit MIPI-c, PINA und m7-FLIPI konnten wir erste Schritte von rein klinischen prognostischen Indizes (IPI, MIPI, FLIPI) bzw. einer rein molekularer Klassifikation (ELN-Klassifikation bei der AML) hin zu kombinierten klinisch-biologischen Prognosemodellen gehen, und eine feinere Stratifizierung der Patienten in Prognosegruppen erreichen. Eine noch genauere Vorhersage der Prognose und des Therapieerfolgs bleibt wünschenswert und kann hoffentlich durch weitere Erforschung der molekularen Zusammenhänge in der Pathophysiologie der Erkrankungen erreicht werden. Unsere Ergebnisse zu wichtigen molekularen und klinischen Prognosefaktoren können hierbei als Basis zur Etablierung neuer Biomarker dienen.

Vor der Etablierung neuer Prognosefaktoren und Prognosemodelle ist eine Validierung der an dem Datensatz zur Modellentwicklung erzielten Ergebnisse von größter Wichtigkeit. Je umfangreicher die verfügbare Information über Patienten- und Krankheitscharakteristika (z.B. bei genomweiten Untersuchungen) und je extensiver die Suche nach optimalen Modellen ist, umso größer ist die Gefahr, ein Modell zu finden, das zufällige Schwankungen als Effekte interpretiert und schlecht oder gar nicht auf zukünftige Patienten anwendbar ist. Bei den von uns entwickelten Prognosemodellen war die Validierung der Ergebnisse ein wesentlicher vorab geplanter Bestandteil der Projekte; wir konnten MIPI, MIPI-c, PINA, und m7-FLIPI mit unabhängigen Datensätzen erfolgreich bestätigen.

Unsere Ergebnisse zur prognostischen Bedeutung von MIPI, Ki-67-Index, und genetischen Copy-Number-Alterationen beim Mantelzell-Lymphom, sowie zum FLIPI und m7-FLIPI beim follikulären Lymphom zeigen auch, dass trotz der verbesserten Prognose durch evidenzbasierte Etablierung neuer Therapiestrategien weiterhin ein Teil der Patienten nicht ausreichend auf diese Therapien anspricht. Unsere Ergebnisse zeigen daher auch die Notwendigkeit der Erforschung neuartiger Therapiestrategien an.

Neben der Entwicklung neuer spezifischerer Medikamente könnte auch eine risiko-adaptierte Therapie zu einer Verbesserung der Prognose beitragen. Der Transfer von differenzierten Prognosemodellen zu risiko-adaptierten Behandlungen steht hierfür noch bevor. Die von uns etablierten Prognosemodelle sind mit relativ einheitlich behandelten Patientenkohorten etabliert und validiert worden und gelten daher ausschließlich unter diesen Therapien. Die Hypothesen, dass Patienten mit einem günstigen Risikoprofil von einer Therapiereduktion und Patienten mit einem ungünstigen Risikoprofil von einer Therapieintensivierung profitieren, dürfen aus unseren Ergebnissen nicht abgeleitet werden, sondern können Gegenstand zukünftiger Studien sein. Wie generell bei der Entwicklung neuer Therapiestrategien ist es notwendig, solche Hypothesen zu risiko-gesteuerten Behandlungen in Phase-II-Studien aufzustellen und in Phase-III-Studien im randomisierten Vergleich zu etablierten Standardtherapien zu überprüfen. In diesem Sinn können zukünftige Studien daher unsere Ergebnisse dafür nutzen, spezifische Therapiestrategien zu entwickeln, um die Prognose bei hämatologischen Neoplasien weiter zu verbessern.

Literaturverzeichnis

Altman DG, Lausen B, Sauerbrei W, Schumacher M (1994). "Dangers of using "optimal" cutpoints in the evaluation of prognostic factors." J Natl Cancer Inst **86**(11): 829-835.

Andersen NS, Jensen MK, de Nully Brown P, Geisler CH (2002). "A Danish population-based analysis of 105 mantle cell lymphoma patients: incidences, clinical features, response, survival and prognostic factors." Eur J Cancer **38**(3): 401-408.

Austin PC, Brunner LJ (2004). "Inflation of the type I error rate when a continuous confounding variable is categorized in logistic regression analyses." Stat Med **23**(7): 1159-1178.

Becher H (1992). "The concept of residual confounding in regression models and some applications." Stat Med **11**(13): 1747-1758.

Brenner H, Blettner M (1997). "Controlling for continuous confounders in epidemiologic research." Epidemiology **8**(4): 429-434.

Büchner T, Berdel WE, Schoch C, Haferlach T, Serve HL, Kienast J, Schnittger S, Kern W, Tchinda J, Reichle A, Lengfelder E, Staib P, Ludwig WD, Aul C, Eimermacher H, Balleisen L, Sauerland MC, Heinecke A, Wörmann B, Hiddemann W (2006). "Double induction containing either two courses or one course of high-dose cytarabine plus mitoxantrone and postremission therapy by either autologous stem-cell transplantation or by prolonged maintenance for acute myeloid leukemia." J Clin Oncol **24**(16): 2480-2489.

Bundesministerium für Gesundheit. (2016). "Bekanntmachung eines Beschlusses des Gemeinsamen Bundesausschusses über eine Änderung der Arzneimittel-Richtlinie (AM-RL): Anlage VI – Off-Label-Use Teil A Ziffer XXVI Rituximab beim Mantelzell-Lymphom vom: 17.03.2016 BAnz AT 07.06.2016 B1." Retrieved September 30, 2016, from https://www.bundesanzeiger.de/ebanzwww/wexsservlet?page.navid=official_starttoofficial_view_publication&session.sessionid=ce644a8c78f9218ebf730faedf2d74b&fts_search_list.selected=4167a30bd8fef0f&&fts_search_list.destHistoryId=33440&fundstelle=BAnz_AT_07.06.2016_B1.

Buske C, Hoster E, Dreyling M, Hasford J, Unterhalt M, Hiddemann W (2006). "The Follicular Lymphoma International Prognostic Index (FLIPI) separates high-risk from intermediate- or low-risk patients with advanced-stage follicular lymphoma treated front-line with rituximab and the combination of cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (R-CHOP) with respect to treatment outcome." Blood **108**(5): 1504-1508.

Byrd JC, Mrozek K, Dodge RK, Carroll AJ, Edwards CG, Arthur DC, Pettenati MJ, Patil SR, Rao KW, Watson MS, Koduru PR, Moore JO, Stone RM, Mayer RJ, Feldman EJ, Davey FR, Schiffer CA, Larson RA, Bloomfield CD (2002). "Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461)." Blood **100**(13): 4325-4336.

Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, Shipp MA, Fisher RI, Connors JM, Lister TA, Vose J, Grillo-Lopez A, Hagenbeek A, Cabanillas F, Klippensten D, Hiddemann W, Castellino R, Harris NL, Armitage JO, Carter W, Hoppe R, Canellos GP (1999). "Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. NCI Sponsored International Working Group." J Clin Oncol **17**(4): 1244.

Cohen J (1983). "The cost of dichotomization." Appl Psychol Meas 7(3): 249-253.

de Jong D, Rosenwald A, Chhanabhai M, Gaulard P, Klapper W, Lee A, Sander B, Thorns C, Campo E, Molina T, Norton A, Hagenbeek A, Horning S, Lister A, Raemaekers J, Gascoyne RD, Salles G, Weller E (2007). "Immunohistochemical prognostic markers in diffuse large B-cell lymphoma: validation of tissue microarray as a prerequisite for broad clinical applications--a study from the Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium." J Clin Oncol 25(7): 805-812.

Delfau-Larue MH, Klapper W, Berger F, Jardin F, Briere J, Salles G, Casasnovas O, Feugier P, Haioun C, Ribrag V, Thieblemont C, Unterhalt M, Dreyling M, Macintyre E, Pott C, Hermine O, Hoster E, European Mantle Cell Lymphoma N (2015). "High-dose cytarabine does not overcome the adverse prognostic value of CDKN2A and TP53 deletions in mantle cell lymphoma." Blood 126(5): 604-611.

Determann O, Hoster E, Ott G, Bernd H-W, Loddenkemper C, Hansmann M-L, Barth TE, Unterhalt M, Hiddemann W, Dreyling M, Klapper W (2008). "Ki-67 predicts outcome in advanced-stage mantle cell lymphoma patients treated with anti-CD20 immunochemotherapy: results from randomized trials of the European MCL Network and the German Low Grade Lymphoma Study Group." Blood 111(4): 2385-2387.

Döhner H, Estey EH, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, Burnett AK, Dombret H, Fenaux P, Grimwade D, Larson RA, Lo-Coco F, Naoe T, Niederwieser D, Ossenkoppele GJ, Sanz MA, Sierra J, Tallman MS, Löwenberg B, Bloomfield CD (2010). "Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet." Blood 115(3): 453-474.

Dreyling (Hrsg.) M (2015). Manual Maligne Lymphome. München, W. Zuckschwerdt Verlag.

Dreyling M, Buske C, Drach J, Herold M. (2016). "Mantelzell-Lymphom." Retrieved September 30, 2016, from <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/mantelzell-lymphom/>.

Dreyling M, Geisler C, Hermine O, Kluin-Nelemans HC, Le Gouill S, Rule S, Shpilberg O, Walewski J, Ladetto M (2014). "Newly diagnosed and relapsed mantle cell lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up." Ann Oncol 25 Suppl 3: iii83-92.

Dreyling M, Ghielmini M, Marcus R, Salles G, Vitolo U, Ladetto M (2014). "Newly diagnosed and relapsed follicular lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up." Ann Oncol 25 Suppl 3: iii76-82.

Dreyling M, Lenz G, Hoster E, Van Hoof A, Gisselbrecht C, Schmits R, Metzner B, Trümper L, Reiser M, Steinhauer H, Boiron JM, Boogaerts MA, Aldaoud A, Silingardi V, Kluin-Nelemans HC, Hasford J, Parwaresch R, Unterhalt M, Hiddemann W (2005). "Early consolidation by myeloablative radiochemotherapy followed by autologous stem cell transplantation in first remission significantly prolongs progression-free survival in mantle-cell lymphoma: results of a prospective randomized trial of the European MCL Network." Blood 105(7): 2677-2684.

Dreyling M, Thieblemont C, Gallamini A, Arcaini L, Campo E, Hermine O, Kluin-Nelemans JC, Ladetto M, Le Gouill S, Iannitto E, Pileri S, Rodriguez J, Schmitz N, Wotherspoon A, Zinzani P, Zucca E (2013). "ESMO Consensus conferences: guidelines on malignant lymphoma. part 2: marginal zone lymphoma, mantle cell lymphoma, peripheral T-cell lymphoma." Ann Oncol 24(4): 857-877.

Dufour A, Schneider F, Hoster E, Benthaus T, Ksienzyk B, Schneider S, Kakadia PM, Sauerland MC, Berdel WE, Buchner T, Wormann B, Braess J, Subklewe M, Hiddemann W, Bohlander SK, Spiekermann K, group ACs (2012). "Monoallelic CEBPA mutations in normal karyotype acute myeloid leukemia: independent favorable prognostic factor within NPM1 mutated patients." Ann Hematol **91**(7): 1051-1063.

Dufour A, Schneider F, Metzeler KH, Hoster E, Schneider S, Zellmeier E, Benthaus T, Sauerland MC, Berdel WE, Buchner T, Wormann B, Braess J, Hiddemann W, Bohlander SK, Spiekermann K (2010). "Acute myeloid leukemia with biallelic CEBPA gene mutations and normal karyotype represents a distinct genetic entity associated with a favorable clinical outcome." J Clin Oncol **28**(4): 570-577.

Fey MF, Buske C (2013). "Acute myeloblastic leukaemias in adult patients: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up." Ann Oncol **24 Suppl 6**: vi138-143.

Forstpointner R, Unterhalt M, Dreyling M, Böck HP, Repp R, Wandt H, Pott C, Seymour JF, Metzner B, Hänel A, Lehmann T, Hartmann F, Einsele H, Hiddemann W (2006). "Maintenance therapy with rituximab leads to a significant prolongation of response duration after salvage therapy with a combination of rituximab, fludarabine, cyclophosphamide, and mitoxantrone (R-FCM) in patients with recurring and refractory follicular and mantle cell lymphomas: Results of a prospective randomized study of the German Low Grade Lymphoma Study Group (GLSG)." Blood **108**(13): 4003-4008.

Gerard-Marchant R, Hamlin I, Lennert K, Rilke F, Stansfeld AG, van Unnik JAM (1974). "Classification of Non-Hodgkin's Lymphomas." Lancet **304**(7877): 406-408.

Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H (1983). "Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation." Int J Cancer **31**(1): 13-20.

Harris NL, Jaffe ES, Stein H, Banks PM, Chan JK, Cleary ML, Delsol G, De Wolf-Peeters C, Falini B, Gatter KC, Grogan TM, Isaacson PG, Knowles DM, Mason DY, Müller-Hermelink HK, Pileri S, Piris MA, Ralfkiaer E, Warnke RA (1994). "A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group." Blood **84**(5): 1361-1392.

Hermine O, Hoster E, Walewski J, Bosly A, Stilgenbauer S, Thieblemont C, Szymczyk M, Bouabdallah R, Kneba M, Hallek M, Salles G, Feugier P, Ribrag V, Birkmann J, Forstpointner R, Haioun C, Hanel M, Casasnovas RO, Finke J, Peter N, Bouabdallah K, Sebban C, Fischer T, Duhrsen U, Metzner B, Maschmeyer G, Kanz L, Schmidt C, Delarue R, Brousse N, Klapper W, Macintyre E, Delfau-Larue MH, Pott C, Hiddemann W, Unterhalt M, Dreyling M, European Mantle Cell Lymphoma N (2016). "Addition of high-dose cytarabine to immunochemotherapy before autologous stem-cell transplantation in patients aged 65 years or younger with mantle cell lymphoma (MCL Younger): a randomised, open-label, phase 3 trial of the European Mantle Cell Lymphoma Network." Lancet **388**(10044): 565-575.

Herrmann A, Hoster E, Zwingers T, Brittinger G, Engelhard M, Meusers P, Reiser M, Forstpointner R, Metzner B, Peter N, Wormann B, Trumper L, Pfreundschuh M, Einsele H, Hiddemann W, Unterhalt M, Dreyling M (2009). "Improvement of overall survival in advanced stage mantle cell lymphoma." J Clin Oncol **27**(4): 511-518.

Hiddemann W, Hoster E, Schmidt C, Dreyling M, Unterhalt M (2016). "Aktuelle Therapiestrategien beim follikulären Lymphom [Current treatment strategies for follicular lymphoma]." Internist (Berl) **57**(3): 222-229.

Hiddemann W, Kneba M, Dreyling M, Schmitz N, Lengfelder E, Schmits R, Reiser M, Metzner B, Harder H, Hegewisch-Becker S, Fischer T, Kropff M, Reis HE, Freund M, Wörmann B, Fuchs R, Planker M, Schimke J, Eimermacher H, Trümper L, Aldaoud A, Parwaresch R, Unterhalt M (2005). "Frontline therapy with rituximab added to the combination of cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (CHOP) significantly improves the outcome for patients with advanced-stage follicular lymphoma compared with therapy with CHOP alone: results of a prospective randomized study of the German Low-Grade Lymphoma Study Group." Blood **106**(12): 3725-3732.

Hiddemann W, Unterhalt M, Herrmann R, Woltjen HH, Kreuser ED, Trümper L, Reuss-Borst M, Terhardt-Kasten E, Busch M, Neubauer A, Kaiser U, Hanrath RD, Middeke H, Helm G, Freund M, Stein H, Tiemann M, Parwaresch R (1998). "Mantle-cell lymphomas have more widespread disease and a slower response to chemotherapy compared with follicle-center lymphomas: results of a prospective comparative analysis of the German Low-Grade Lymphoma Study Group." J Clin Oncol **16**(5): 1922-1930.

Hoster E, Dreyling M, Klapper W, Gisselbrecht C, van Hoof A, Kluin-Nelemans HC, Pfreundschuh M, Reiser M, Metzner B, Einsele H, Peter N, Jung W, Wormann B, Ludwig WD, Duhrsen U, Eimermacher H, Wandt H, Hasford J, Hiddemann W, Unterhalt M, German Low Grade Lymphoma Study G, European Mantle Cell Lymphoma N (2008). "A new prognostic index (MIPI) for patients with advanced-stage mantle cell lymphoma." Blood **111**(2): 558-565.

Hoster E, Klapper W, Hermine O, Kluin-Nelemans HC, Walewski J, van Hoof A, Trnieny M, Geisler CH, Di Raimondo F, Szymczyk M, Stilgenbauer S, Thieblemont C, Hallek M, Forstpointner R, Pott C, Ribrag V, Doorduijn J, Hiddemann W, Dreyling MH, Unterhalt M (2014). "Confirmation of the mantle-cell lymphoma International Prognostic Index in randomized trials of the European Mantle-Cell Lymphoma Network." J Clin Oncol **32**(13): 1338-1346.

Hoster E, Pott C (2016). "Minimal residual disease in mantle cell lymphoma: insights into biology and impact on treatment." Hematology Am Soc Hematol Educ Program **2016**(1): 437-445.

Hoster E, Rosenwald A, Berger F, Bernd HW, Hartmann S, Loddenkemper C, Barth TF, Brousse N, Pileri S, Rymkiewicz G, Kodet R, Stilgenbauer S, Forstpointner R, Thieblemont C, Hallek M, Coiffier B, Vehling-Kaiser U, Bouabdallah R, Kanz L, Pfreundschuh M, Schmidt C, Ribrag V, Hiddemann W, Unterhalt M, Kluin-Nelemans JC, Hermine O, Dreyling MH, Klapper W (2016). "Prognostic Value of Ki-67 Index, Cytology, and Growth Pattern in Mantle-Cell Lymphoma: Results From Randomized Trials of the European Mantle Cell Lymphoma Network." J Clin Oncol **34**(12): 1386-1394.

International Biometric Society. (2010). "Definition of Biometrics." Retrieved September 30, 2016, from <http://www.biometricsociety.org/about/definition-of-biometrics/>.

Klapper W, Hoster E, Determann O, Oschlies I, van der Laak J, Berger F, Bernd HW, Cabecadas J, Campo E, Cogliatti S, Hansmann ML, Kluin PM, Kodet R, Krivolapov YA, Loddenkemper C, Stein H, Moller P, Barth TE, Muller-Hermelink K, Rosenwald A, Ott G, Pileri S, Ralfkiaer E, Rymkiewicz G, van Krieken JH, Wacker HH, Unterhalt M, Hiddemann W, Dreyling M, European MCLN (2009). "Ki-67 as a prognostic marker in mantle cell lymphoma-consensus guidelines of the pathology panel of the European MCL Network." J Hematop **2**(2): 103-111.

Kluin-Nelemans HC, Hoster E, Hermine O, Walewski J, Trnieny M, Geisler CH, Stilgenbauer S, Thieblemont C, Vehling-Kaiser U, Doorduijn JK, Coiffier B, Forstpointner R, Tilly H, Kanz L, Feugier P, Szymczyk M, Hallek M, Kremers S, Lepeu G, Sanhes L, Zijlstra JM, Bouabdallah R, Lugtenburg PJ, Macro M, Pfreundschuh M, Prochazka V, Di Raimondo F, Ribrag V, Uppenkamp M,

Andre M, Klapper W, Hiddemann W, Unterhalt M, Dreyling MH (2012). "Treatment of older patients with mantle-cell lymphoma." N Engl J Med **367**(6): 520-531.

Lagakos SW (1988). "Effects of mismodelling and mismeasuring explanatory variables on tests of their association with a response variable." Stat Med **7**(1-2): 257-274.

Lenz G, Dreyling M, Hoster E, Wormann B, Duhrsen U, Metzner B, Eimermacher H, Neubauer A, Wandt H, Steinhauer H, Martin S, Heidemann E, Aldaoud A, Parwaresch R, Hasford J, Unterhalt M, Hiddemann W (2005). "Immunotherapy with rituximab and cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone significantly improves response and time to treatment failure, but not long-term outcome in patients with previously untreated mantle cell lymphoma: results of a prospective randomized trial of the German Low Grade Lymphoma Study Group (GLSG)." J Clin Oncol **23**(9): 1984-1992.

National Comprehensive Cancer Network (2016). Acute Myeloid Leukemia. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®) Version 2.2016.

National Comprehensive Cancer Network (2016). Non-Hodgkin's Lymphomas. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®) Version 1.2016.

Nickenig C, Dreyling M, Hoster E, Pfreundschuh M, Trumper L, Reiser M, Wandt H, Lengfelder E, Unterhalt M, Hiddemann W, German Low-Grade Lymphoma Study G (2006). "Combined cyclophosphamide, vincristine, doxorubicin, and prednisone (CHOP) improves response rates but not survival and has lower hematologic toxicity compared with combined mitoxantrone, chlorambucil, and prednisone (MCP) in follicular and mantle cell lymphomas: results of a prospective randomized trial of the German Low-Grade Lymphoma Study Group." Cancer **107**(5): 1014-1022.

Pastore A, Jurinovic V, Kridel R, Hoster E, Staiger AM, Szczepanowski M, Pott C, Kopp N, Murakami M, Horn H, Leich E, Moccia AA, Mottok A, Sunkavalli A, Van Hummelen P, Ducar M, Ennishi D, Shulha HP, Hother C, Connors JM, Sehn LH, Dreyling M, Neuberg D, Moller P, Feller AC, Hansmann ML, Stein H, Rosenwald A, Ott G, Klapper W, Unterhalt M, Hiddemann W, Gascoyne RD, Weinstock DM, Weigert O (2015). "Integration of gene mutations in risk prognostication for patients receiving first-line immunochemotherapy for follicular lymphoma: a retrospective analysis of a prospective clinical trial and validation in a population-based registry." Lancet Oncol **16**(9): 1111-1122.

Pastore F, Dufour A, Benthaus T, Metzeler KH, Maharry KS, Schneider S, Ksienzyk B, Mellert G, Zellmeier E, Kakadia PM, Unterhalt M, Feuring-Buske M, Buske C, Braess J, Sauerland MC, Heinecke A, Krug U, Berdel WE, Büchner T, Wörmann B, Hiddemann W, Bohlander SK, Marcucci G, Spiekermann K, Bloomfield CD, Hoster E (2014). "Combined molecular and clinical prognostic index for relapse and survival in cytogenetically normal acute myeloid leukemia." J Clin Oncol **32**(15): 1586-1594.

Pastore F, Kling D, Hoster E, Dufour A, Konstandin NP, Schneider S, Sauerland MC, Berdel WE, Büchner T, Wörmann B, Braess J, Hiddemann W, Spiekermann K (2014). "Long-term follow-up of cytogenetically normal CEBPA-mutated AML." J Hematol Oncol **7**: 55.

Pott C, Hoster E, Delfau-Larue MH, Beldjord K, Bottcher S, Asnafi V, Plonquet A, Siebert R, Callet-Bauchu E, Andersen N, van Dongen JJ, Klapper W, Berger F, Ribrag V, van Hoof AL, Trneny M, Walewski J, Dreger P, Unterhalt M, Hiddemann W, Kneba M, Kluin-Nelemans HC, Hermine O, Macintyre E, Dreyling M (2010). "Molecular remission is an independent predictor of clinical

outcome in patients with mantle cell lymphoma after combined immunochemotherapy: a European MCL intergroup study." Blood **115**(16): 3215-3223.

Pott C, Macintyre E, Delfau-Larue MH, Ribrag V, Unterhalt M, Kneba M, Hiddemann W, Dreyling M, Hermine O, Hoster E (2014). MRD Eradication Should be the Therapeutic Goal in Mantle Cell Lymphoma and May Enable Tailored Treatment Approaches: Results of the Intergroup Trials of the European MCL Network. ASH Annual Meeting. San Francisco, CA. Abstract 147.

Pott C, Schrader C, Gesk S, Harder L, Tiemann M, Raff T, Brüggemann M, Ritgen M, Gahn B, Unterhalt M, Dreyling M, Hiddemann W, Siebert R, Dreger P, Kneba M (2006). "Quantitative assessment of molecular remission after high-dose therapy with autologous stem cell transplantation predicts long-term remission in mantle cell lymphoma." Blood **107**(6): 2271-2278.

Raty R, Franssila K, Joensuu H, Teerenhovi L, Elonen E (2002). "Ki-67 expression level, histological subtype, and the International Prognostic Index as outcome predictors in mantle cell lymphoma." Eur J Haematol **69**(1): 11-20.

Royston P, Altman DG, Sauerbrei W (2006). "Dichotomizing continuous predictors in multiple regression: a bad idea." Stat Med **25**(1): 127-141.

Sackett DL (1969). "Clinical epidemiology." Am J Epidemiol **89**(2): 125-128.

Salek D, Vesela P, Boudova L, Janikova A, Klener P, Vokurka S, Jankovska M, Pytlik R, Belada D, Pirnos J, Moulis M, Kodet R, Michal M, Janousova E, Muzik J, Mayer J, Trneny M (2014). "Retrospective analysis of 235 unselected patients with mantle cell lymphoma confirms prognostic relevance of Mantle Cell Lymphoma International Prognostic Index and Ki-67 in the era of rituximab: long-term data from the Czech Lymphoma Project Database." Leuk Lymphoma **55**(4): 802-810.

Schlenk RF, Döhner K, Krauter J, Frohling S, Corbacioglu A, Bullinger L, Habdank M, Spath D, Morgan M, Benner A, Schlegelberger B, Heil G, Ganser A, Döhner H (2008). "Mutations and treatment outcome in cytogenetically normal acute myeloid leukemia." N Engl J Med **358**(18): 1909-1918.

Schneider F, Hoster E, Unterhalt M, Schneider S, Dufour A, Benthaus T, Mellert G, Zellmeier E, Bohlander SK, Feuring-Buske M, Buske C, Braess J, Fritsch S, Heinecke A, Sauerland MC, Berdel WE, Buechner T, Woermann BJ, Hiddemann W, Spiekermann K (2009). "NPM1 but not FLT3-ITD mutations predict early blast cell clearance and CR rate in patients with normal karyotype AML (NK-AML) or high-risk myelodysplastic syndrome (MDS)." Blood **113**(21): 5250-5253.

Schneider F, Hoster E, Unterhalt M, Schneider S, Dufour A, Benthaus T, Mellert G, Zellmeier E, Kakadia PM, Bohlander SK, Feuring-Buske M, Buske C, Braess J, Heinecke A, Sauerland MC, Berdel WE, Buchner T, Wormann BJ, Hiddemann W, Spiekermann K (2012). "The FLT3ITD mRNA level has a high prognostic impact in NPM1 mutated, but not in NPM1 unmutated, AML with a normal karyotype." Blood **119**(19): 4383-4386.

Schrader C, Meusers P, Brittinger G, Teymoortash A, Siebmann JU, Janssen D, Parwaresch R, Tiemann M (2004). "Topoisomerase IIalpha expression in mantle cell lymphoma: a marker of cell proliferation and a prognostic factor for clinical outcome." Leukemia **18**(7): 1200-1206.

Scott DW, Abrisqueta P, Wright GW, Slack GW, Mottok A, Villa D, Jares P, Rauert-Wunderlich H, Royo C, Clot G, Pinyol M, Boyle M, Chan FC, Braziel RM, Chan WC, Weisenburger DD, Cook JR,

Greiner TC, Fu K, Ott G, Delabie J, Smeland EB, Holte H, Jaffe ES, Steidl C, Connors JM, Gascoyne RD, Rosenwald A, Staudt LM, Campo E, Rimsza LM (2017). "A new molecular assay for the proliferation signature in mantle cell lymphoma applicable to formalin-fixed paraffin-embedded biopsies." J Clin Oncol (in press).

Solal-Celigny P, Roy P, Colombat P, White J, Armitage JO, Arranz-Saez R, Au WY, Bellei M, Brice P, Caballero D, Coiffier B, Conde-Garcia E, Doyen C, Federico M, Fisher RI, Garcia-Conde JF, Guglielmi C, Hagenbeek A, Haioun C, LeBlanc M, Lister AT, Lopez-Guillermo A, McLaughlin P, Milpied N, Morel P, Mounier N, Proctor SJ, Rohatiner A, Smith P, Soubeyran P, Tilly H, Vitolo U, Zinzani PL, Zucca E, Montserrat E (2004). "Follicular lymphoma international prognostic index." Blood **104**(5): 1258-1265.

Spiekermann (Hrsg.) K (2015). Manual Leukämien, myelodysplastische Syndrome und myeloproliferative Neoplasien. München, W. Zuckschwerdt Verlag.

Spurgeon SE, Till BG, Martin P, Goy AH, Dreyling MP, Gopal AK, LeBlanc M, Leonard JP, Friedberg JW, Baizer L, Little RF, Kahl BS, Smith MR (2017). "Recommendations for Clinical Trial Development in Mantle Cell Lymphoma." J Natl Cancer Inst **109**(1).

Swerdlow S, Campo E, Harris NL, Jaffe E, Pileri S, Stein H (2008). WHO classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France, International Agency for Research on Cancer.

The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project (1993). "A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. ." N Engl J Med **329**(14): 987-994.

Tiemann M, Schrader C, Klapper W, Dreyling MH, Campo E, Norton A, Berger F, Kluin P, Ott G, Pileri S, Pedrinis E, Feller AC, Merz H, Janssen D, Hansmann ML, Krieken H, Moller P, Stein H, Unterhalt M, Hiddemann W, Parwaresch R (2005). "Histopathology, cell proliferation indices and clinical outcome in 304 patients with mantle cell lymphoma (MCL): a clinicopathological study from the European MCL Network." Br J Haematol **131**(1): 29-38.

Velders GA, Kluin-Nelemans JC, De Boer CJ, Hermans J, Noordijk EM, Schuurung E, Kramer MH, Van Deijk WA, Rahder JB, Kluin PM, Van Krieken JH (1996). "Mantle-cell lymphoma: a population-based clinical study." J Clin Oncol **14**(4): 1269-1274.

Vesela P, Tonar Z, Salek D, Vokurka S, Trneny M, Kodet R, Moulis M, Kasparova P, Vernerova Z, Velenska Z, Stritesky J, Michal M, Boudova L (2014). "Microvessel density of mantle cell lymphoma. A retrospective study of its prognostic role and the correlation with the Ki-67 and the mantle cell lymphoma international prognostic index in 177 cases." Virchows Arch.

Whitehead J (1992). The Design and Analysis of Sequential Clinical Trials, Ellis Horwood.

Fachpublikationen

- 1) Hermine O,* **Hoster E**,* Walewski J, Bosly A, Stilgenbauer S, Thieblemont C, Szymczyk M, Bouabdallah R, Kneba M, Hallek M, Salles G, Feugier P, Ribrag V, Birkmann J, Forstpointner R, Haioun C, Hänel M, Casasnovas RO, Finke J, Peter N, Bouabdallah K, Sebban C, Fischer T, Dührsen U, Metzner B, Maschmeyer G, Kanz L, Schmidt C, Delarue R, Brousse N, Klapper W, Macintyre E, Delfau-Larue MH, Pott C, Hiddemann W, Unterhalt M, Dreyling M (2016). "Addition of high-dose cytarabine to immunochemotherapy before autologous stem-cell transplantation in patients aged 65 years or younger with mantle cell lymphoma (MCL Younger): a randomised, open-label, phase 3 trial of the European Mantle Cell Lymphoma Network." Lancet 388(10044): 565-575. DOI: [10.1016/S0140-6736\(16\)00739-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00739-X)
- 2) Kluin-Nelemans HC, **Hoster E**, Hermine O, Walewski J, Trneny M, Geisler CH, Stilgenbauer S, Thieblemont C, Vehling-Kaiser U, Doorduijn JK, Coiffier B, Forstpointner R, Tilly H, Kanz L, Feugier P, Szymczyk M, Hallek M, Kremers S, Lepeu G, Sanhes L, Zijlstra JM, Bouabdallah R, Lugtenburg PJ, Macro M, Pfreundschuh M, Prochazka V, Di Raimondo F, Ribrag V, Uppenkamp M, Andre M, Klapper W, Hiddemann W, Unterhalt M, Dreyling MH (2012). "Treatment of older patients with mantle-cell lymphoma." N Engl J Med 367(6): 520-531. DOI: [10.1056/NEJMoa1200920](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1200920)
- 3) **Hoster E**, Klapper W, Hermine O, Kluin-Nelemans HC, Walewski J, van Hoof A, Trneny M, Geisler CH, Di Raimondo F, Szymczyk M, Stilgenbauer S, Thieblemont C, Hallek M, Forstpointner R, Pott C, Ribrag V, Doorduijn J, Hiddemann W, Dreyling MH, Unterhalt M (2014). "Confirmation of the mantle-cell lymphoma International Prognostic Index in randomized trials of the European Mantle-Cell Lymphoma Network." J Clin Oncol 32(13): 1338-1346. DOI: [10.1200/JCO.2013.52.2466](https://doi.org/10.1200/JCO.2013.52.2466)
- 4) Determann O, **Hoster E**, Ott G, Wolfram Bernd H, Loddenkemper C, Hansmann M-L, Barth TE, Unterhalt M, Hiddemann W, Dreyling M, Klapper W (2008). "Ki-67 predicts outcome in advanced-stage mantle cell lymphoma patients treated with anti-CD20 immunochemotherapy: results from randomized trials of the European MCL Network and the German Low Grade Lymphoma Study Group." Blood 111(4): 2385-2387. DOI: [10.1182/blood-2007-10-117010](https://doi.org/10.1182/blood-2007-10-117010)
- 5) Klapper W, **Hoster E**, Determann O, Oschlies I, van der Laak J, Berger F, Bernd HW, Cabecadas J, Campo E, Cogliatti S, Hansmann ML, Kluin PM, Kodet R, Krivolapov YA, Loddenkemper C, Stein H, Möller P, Barth TE, Müller-Hermelink K, Rosenwald A, Ott G, Pileri S, Ralfkiaer E, Rymkiewicz G, van Krieken JH, Wacker HH, Unterhalt M, Hiddemann W, Dreyling M (2009). "Ki-67 as a prognostic marker in mantle cell lymphoma-consensus guidelines of the pathology panel of the European MCL Network." J Hematop 2(2): 103-111. DOI: [10.1007/s12308-009-0036-x](https://doi.org/10.1007/s12308-009-0036-x)

- 6) **Hoster E**, Rosenwald A, Berger F, Bernd HW, Hartmann S, Loddenkemper C, Barth TF, Brousse N, Pileri S, Rymkiewicz G, Kodet R, Stilgenbauer S, Forstpointner R, Thieblemont C, Hallek M, Coiffier B, Vehling-Kaiser U, Bouabdallah R, Kanz L, Pfreundschuh M, Schmidt C, Ribrag V, Hiddemann W, Unterhalt M, Kluin-Nelemans JC, Hermine O, Dreyling MH, Klapper W (2016). "Prognostic Value of Ki-67 Index, Cytology, and Growth Pattern in Mantle-Cell Lymphoma: Results From Randomized Trials of the European Mantle Cell Lymphoma Network." J Clin Oncol 34(12): 1386-1394. DOI: [10.1200/JCO.2015.63.8387](https://doi.org/10.1200/JCO.2015.63.8387)
- 7) Delfau-Larue MH, Klapper W, Berger F, Jardin F, Briere J, Salles G, Casasnovas O, Feugier P, Haioun C, Ribrag V, Thieblemont C, Unterhalt M, Dreyling M, Macintyre E, Pott C, Hermine O, **Hoster E** (2015). "High-dose cytarabine does not overcome the adverse prognostic value of CDKN2A and TP53 deletions in mantle cell lymphoma." Blood 126(5): 604-611. DOI: [10.1182/blood-2015-02-628792](https://doi.org/10.1182/blood-2015-02-628792)
- 8) Pott C, **Hoster E**, Delfau-Larue MH, Beldjord K, Böttcher S, Asnafi V, Plonquet A, Siebert R, Callet-Bauchu E, Andersen N, van Dongen JJ, Klapper W, Berger F, Ribrag V, van Hoof AL, Trneny M, Walewski J, Dreger P, Unterhalt M, Hiddemann W, Kneba M, Kluin-Nelemans HC, Hermine O, Macintyre E, Dreyling M (2010). "Molecular remission is an independent predictor of clinical outcome in patients with mantle cell lymphoma after combined immunochemotherapy: a European MCL intergroup study." Blood 115(16): 3215-3223. DOI: [10.1182/blood-2009-06-230250](https://doi.org/10.1182/blood-2009-06-230250)
- 9) Buske C,* **Hoster E**,* Dreyling M, Hasford J, Unterhalt M and Hiddemann W (2006). "The Follicular Lymphoma International Prognostic Index (FLIPI) separates high-risk from intermediate- or low-risk patients with advanced-stage follicular lymphoma treated front-line with rituximab and the combination of cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (R-CHOP) with respect to treatment outcome." Blood 108(5): 1504-1508. DOI: [10.1182/blood-2006-01-013367](https://doi.org/10.1182/blood-2006-01-013367)
- 10) Pastore F, Dufour A, Benthous T, Metzeler KH, Maharry KS, Schneider S, Ksienzyk B, Mellert G, Zellmeier E, Kakadia PM, Unterhalt M, Feuring-Buske M, Buske C, Braess J, Sauerland MC, Heinecke A, Krug U, Berdel WE, Büchner T, Wörmann B, Hiddemann W, Bohlander SK, Marcucci G, Spiekermann K, Bloomfield CD,* **Hoster E*** (2014). "Combined molecular and clinical prognostic index for relapse and survival in cytogenetically normal acute myeloid leukemia." J Clin Oncol 32(15): 1586-1594. DOI: [10.1200/JCO.2013.52.3480](https://doi.org/10.1200/JCO.2013.52.3480)

* gleichwertiger Beitrag